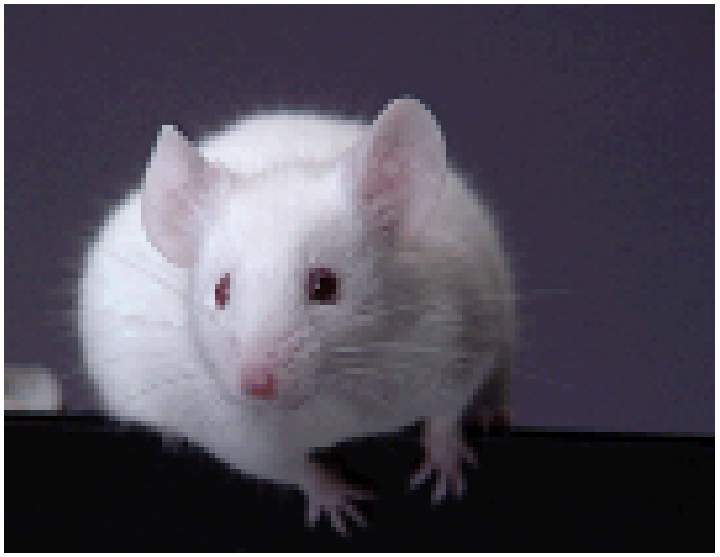
Universität Hamburg
DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

Fachbereich biologie
Institut für pflanzenwissenschaften
und mikrobiologie

Entwicklungsbiologie
Sommersemester 2020

Mammalia und Drosophila

Mammalia (Säugetiere)

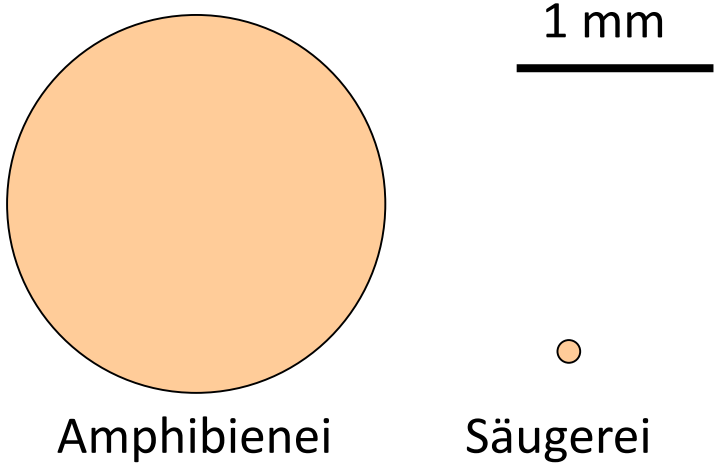


- vivipar (bis auf Monotremata = Kloakentiere; Schnabeltiere, Ameisenigel)
- Embryo wird über Mutter versorgt (=> oligolecithal)
- Ausbildung einer Plazenta
- Schwierig experimentell zu bearbeiten

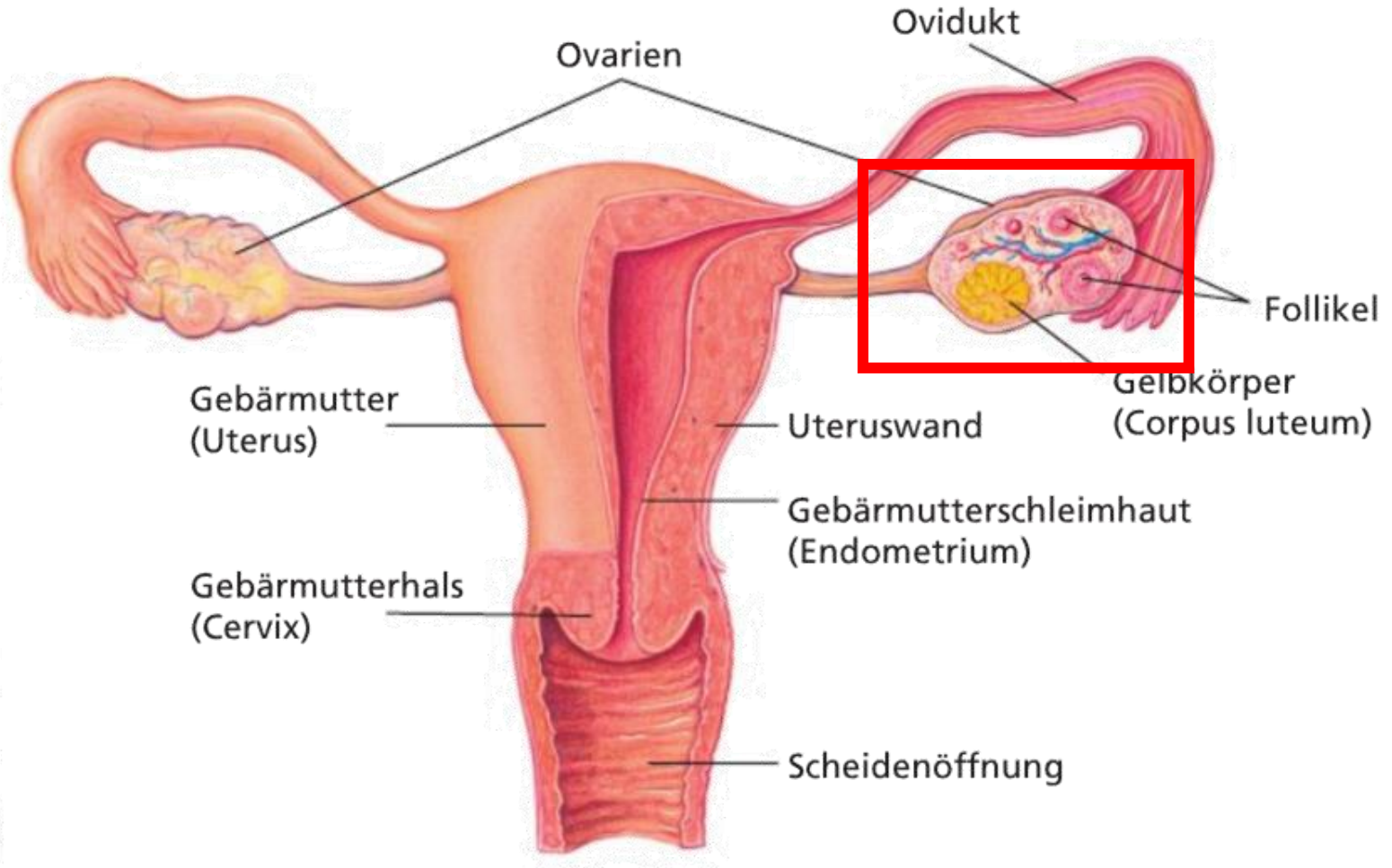
Nachteile

- *Eier klein*
- *von Follikelzellen umgeben*
- *Säuger produzieren wenig Eier (< 10 pro Ovulation)*
- *Entwicklung in der Mutter*
- *Modellsystem Maus mit ungewöhnlicher Embryonalentwicklung*

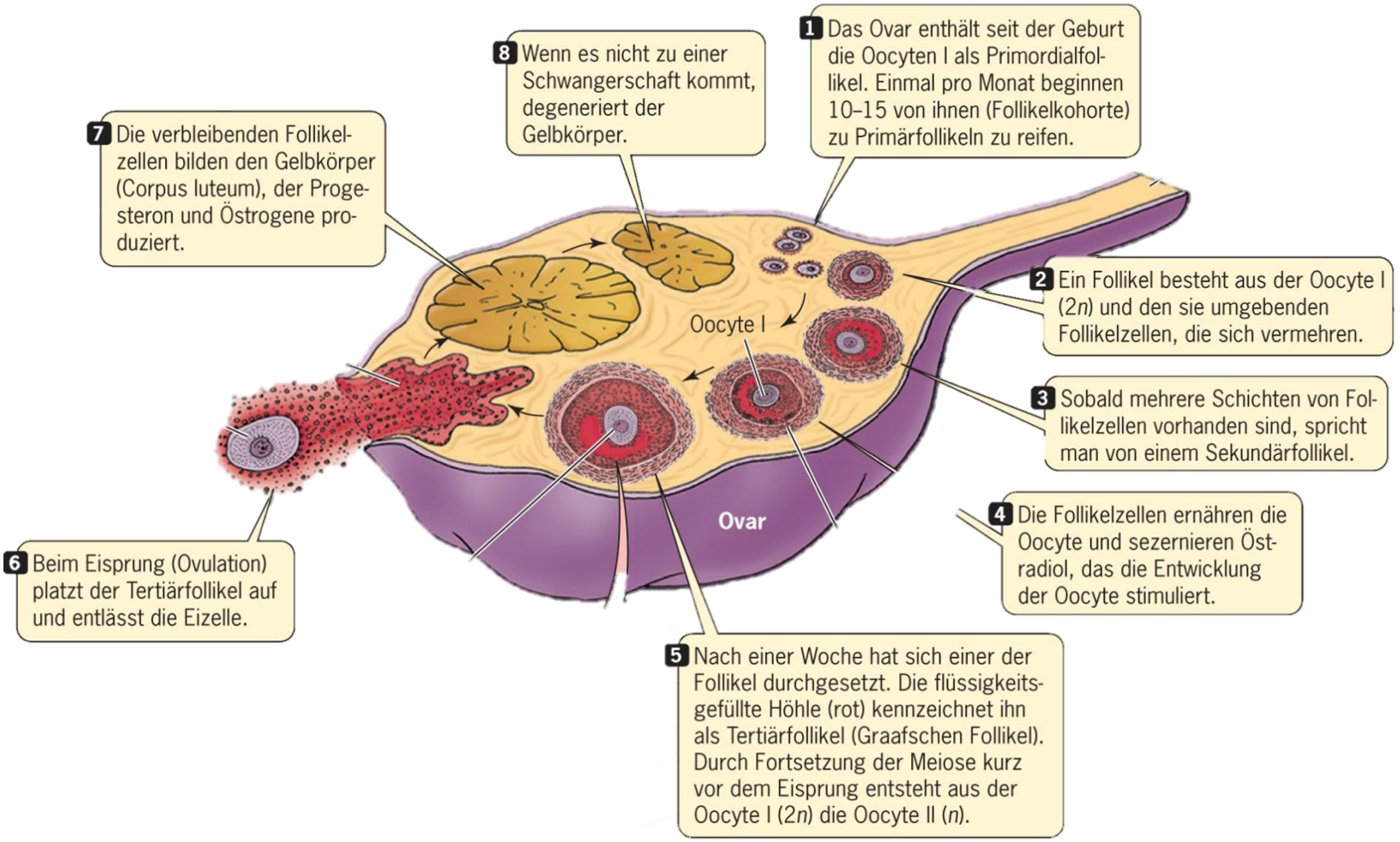
Größenvergleich:



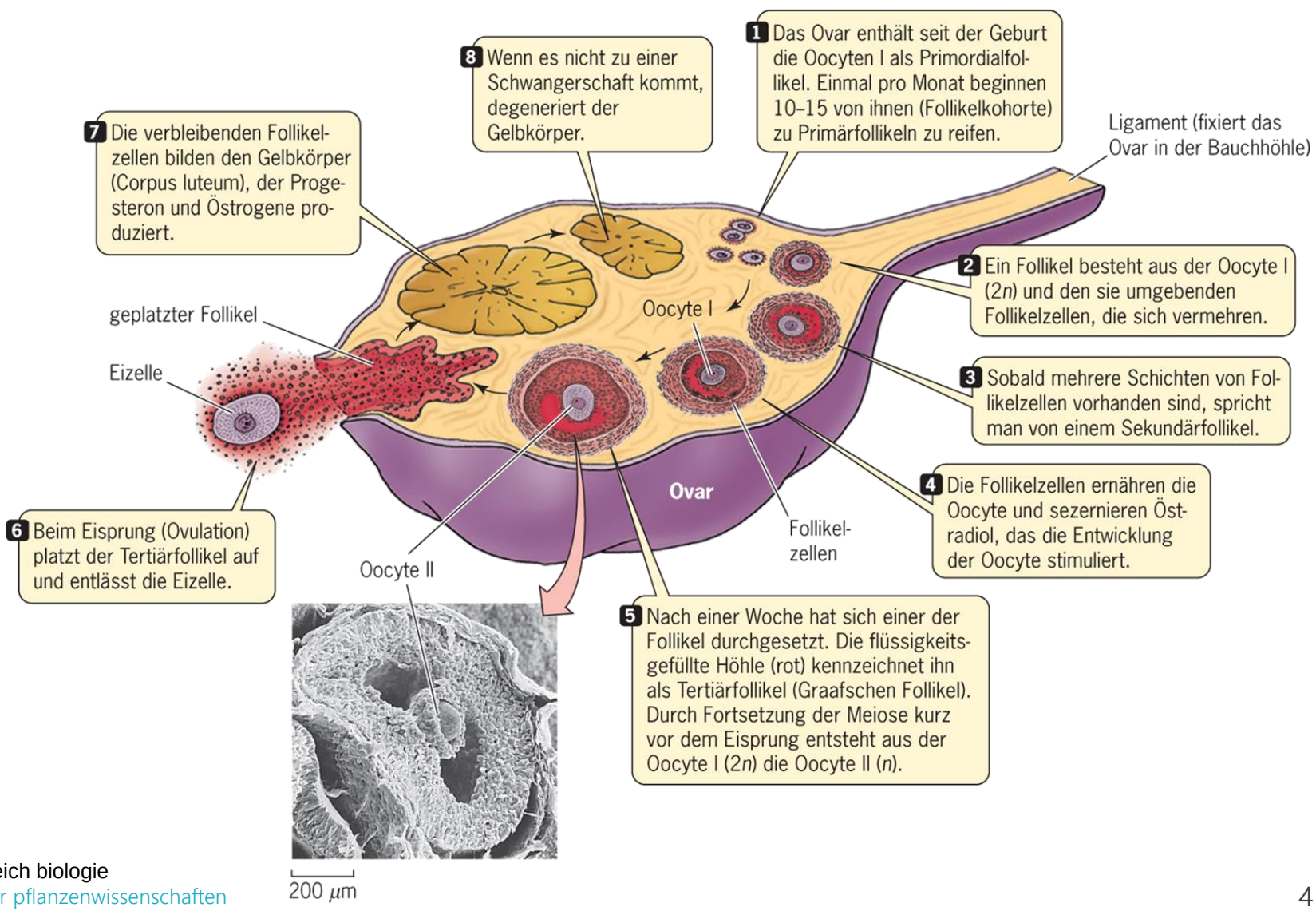
Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane des Menschen



Ovulation

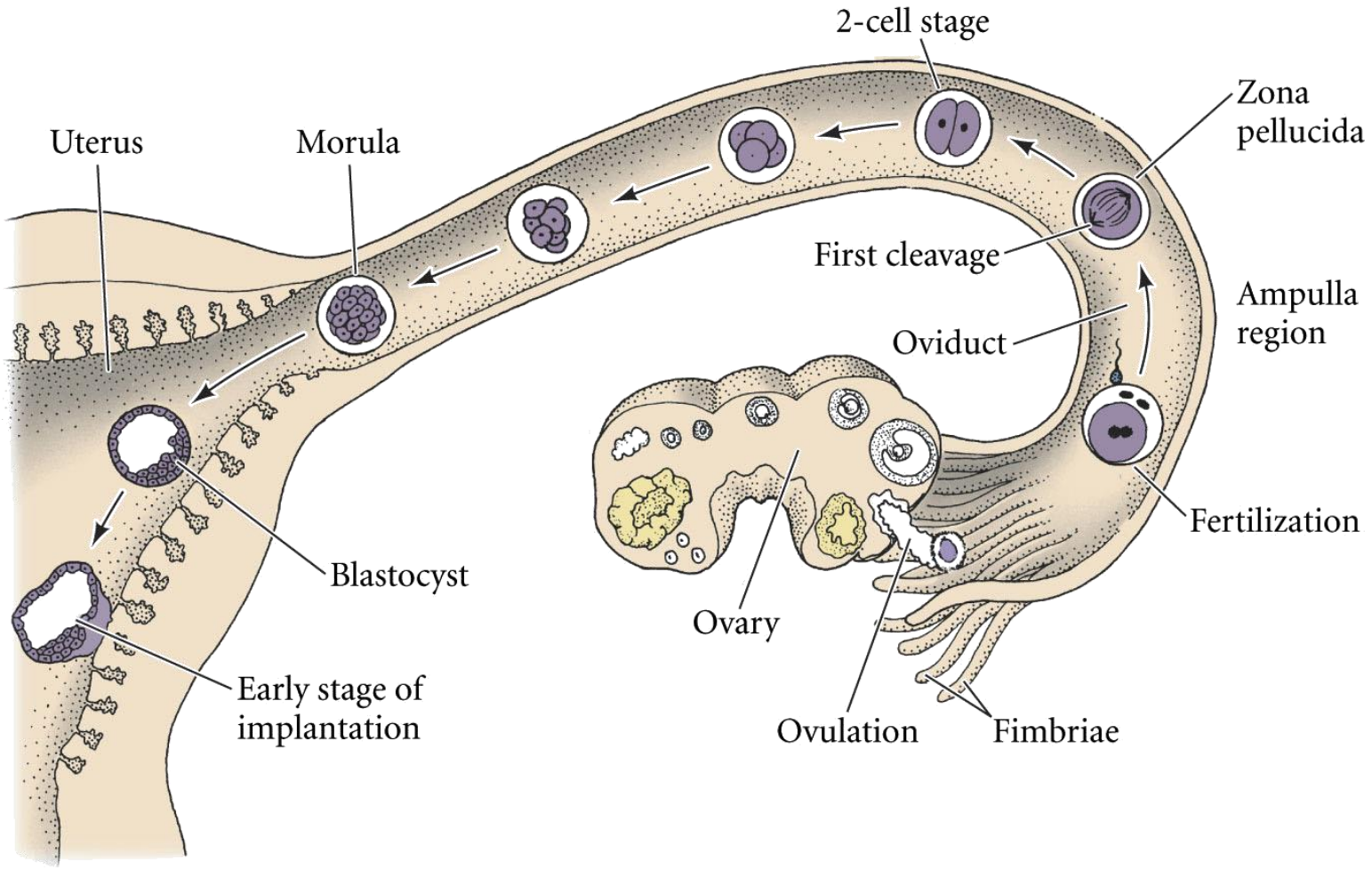

1 Das Ovar enthält seit der Geburt die Oocyten I als Primordialfollikel. Einmal pro Monat beginnen 10–15 von ihnen (Follikelkohorte) zu Primärfollikeln zu reifen.
2 Ein Follikel besteht aus der Oocyte I (2n) und den sie umgebenden Follikelzellen, die sich vermehren.
3 Sobald mehrere Schichten von Follikelzellen vorhanden sind, spricht man von einem Sekundärfollikel.
4 Die Follikelzellen ernähren die Oocyte und sezernieren Östradiol, das die Entwicklung der Oocyte stimuliert.
5 Nach einer Woche hat sich einer der Follikel durchgesetzt. Die flüssigkeitsgefüllte Höhle (rot) kennzeichnet ihn als Tertiärfollikel (Graafschen Follikel). Durch Fortsetzung der Meiose kurz vor dem Eisprung entsteht aus der Oocyte I (2n) die Oocyte II (n).
6 Beim Eisprung (Ovulation) platzt der Tertiärfollikel auf und entlässt die Eizelle.
7 Die verbleibenden Follikelzellen bilden den Gelbkörper (Corpus luteum), der Progesteron und Östrogene produziert.
8 Wenn es nicht zu einer Schwangerschaft kommt, degeneriert der Gelbkörper.
Oocyte I
Ovar

Ovulation


1 Das Ovar enthält seit der Geburt die Oocyten I als Primordialfollikel. Einmal pro Monat beginnen 10–15 von ihnen (Follikelkohorte) zu Primärfollikeln zu reifen.
8 Wenn es nicht zu einer Schwangerschaft kommt, degeneriert der Gelbkörper.
7 Die verbleibenden Follikelzellen bilden den Gelbkörper (Corpus luteum), der Progesteron und Östrogene produziert.
Ligament (fixiert das Ovar in der Bauchhöhle)
2 Ein Follikel besteht aus der Oocyte I (2n) und den sie umgebenden Follikelzellen, die sich vermehren.
3 Sobald mehrere Schichten von Follikelzellen vorhanden sind, spricht man von einem Sekundärfollikel.
4 Die Follikelzellen ernähren die Oocyte und sezernieren Östradiol, das die Entwicklung der Oocyte stimuliert.
geplatzter Follikel
Eizelle
Oocyte I
Ovar
Follikelzellen
6 Beim Eisprung (Ovulation) platzt der Tertiärfollikel auf und entlässt die Eizelle.
Oocyte II
5 Nach einer Woche hat sich einer der Follikel durchgesetzt. Die flüssigkeitsgefüllte Höhle (rot) kennzeichnet ihn als Tertiärfollikel (Graafschen Follikel). Durch Fortsetzung der Meiose kurz vor dem Eisprung entsteht aus der Oocyte I (2n) die Oocyte II (n).
200 µm

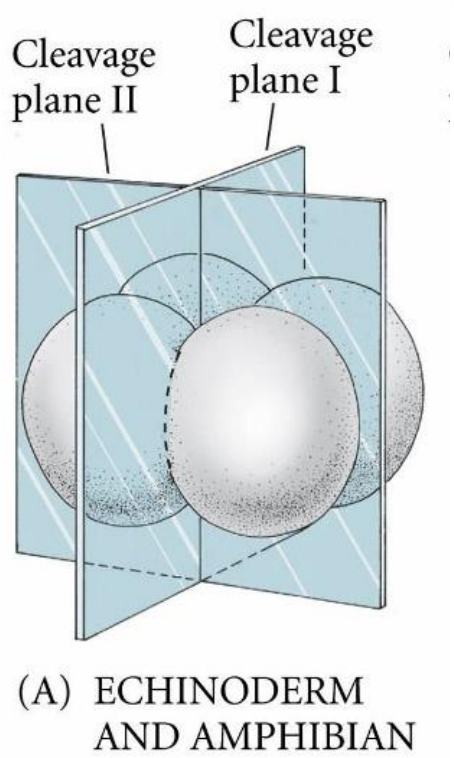
Aus Purves/Sadava/Orians/Heller, *Biologie*, 7. Aufl., © 2006 Elsevier GmbH

Ovulation bis Implantation



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, **Figure 11.27** © 2006 Sinauer Associates, Inc.

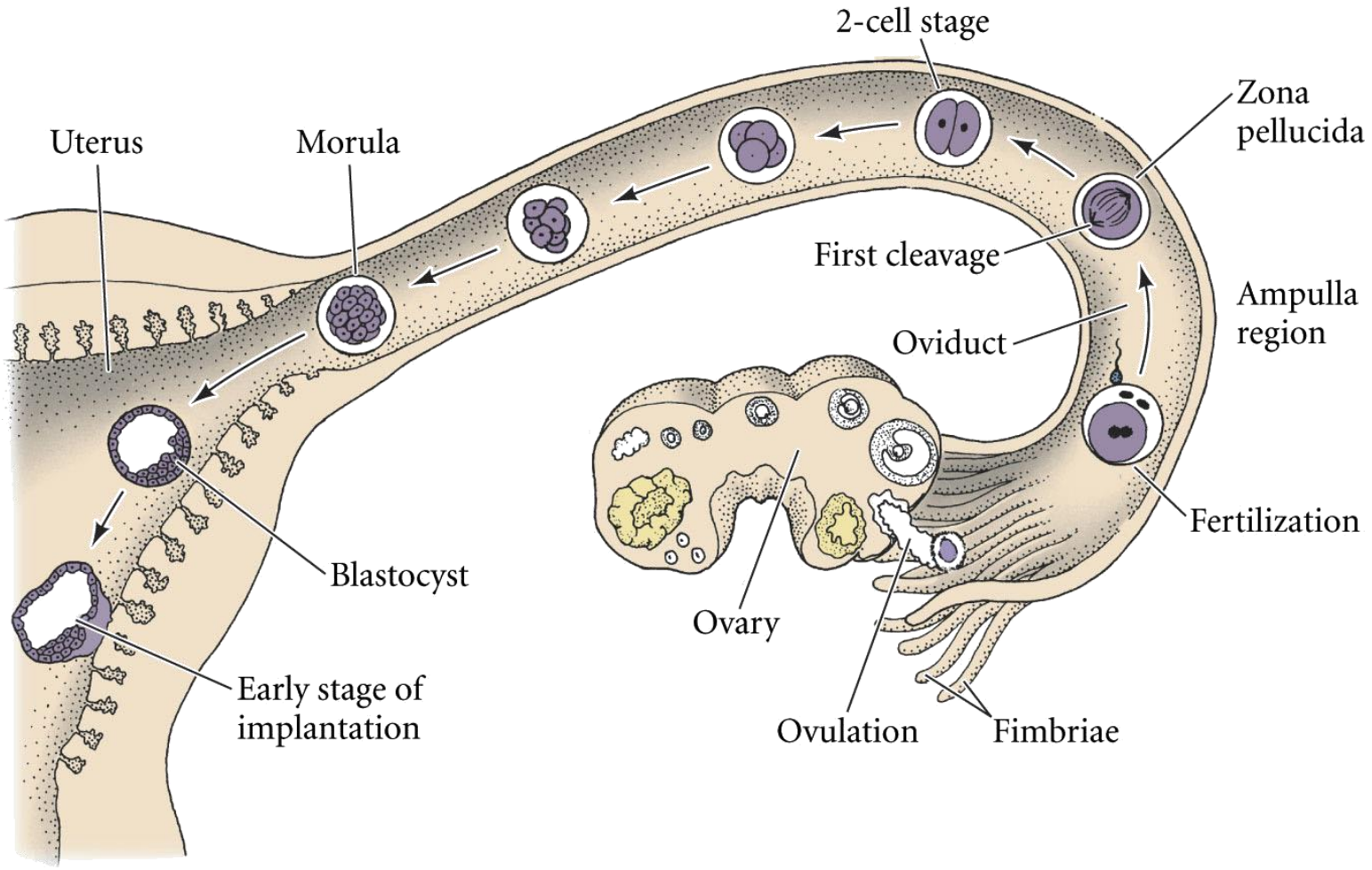
Furchungsteilungen der Säuger



radiär **rotational**

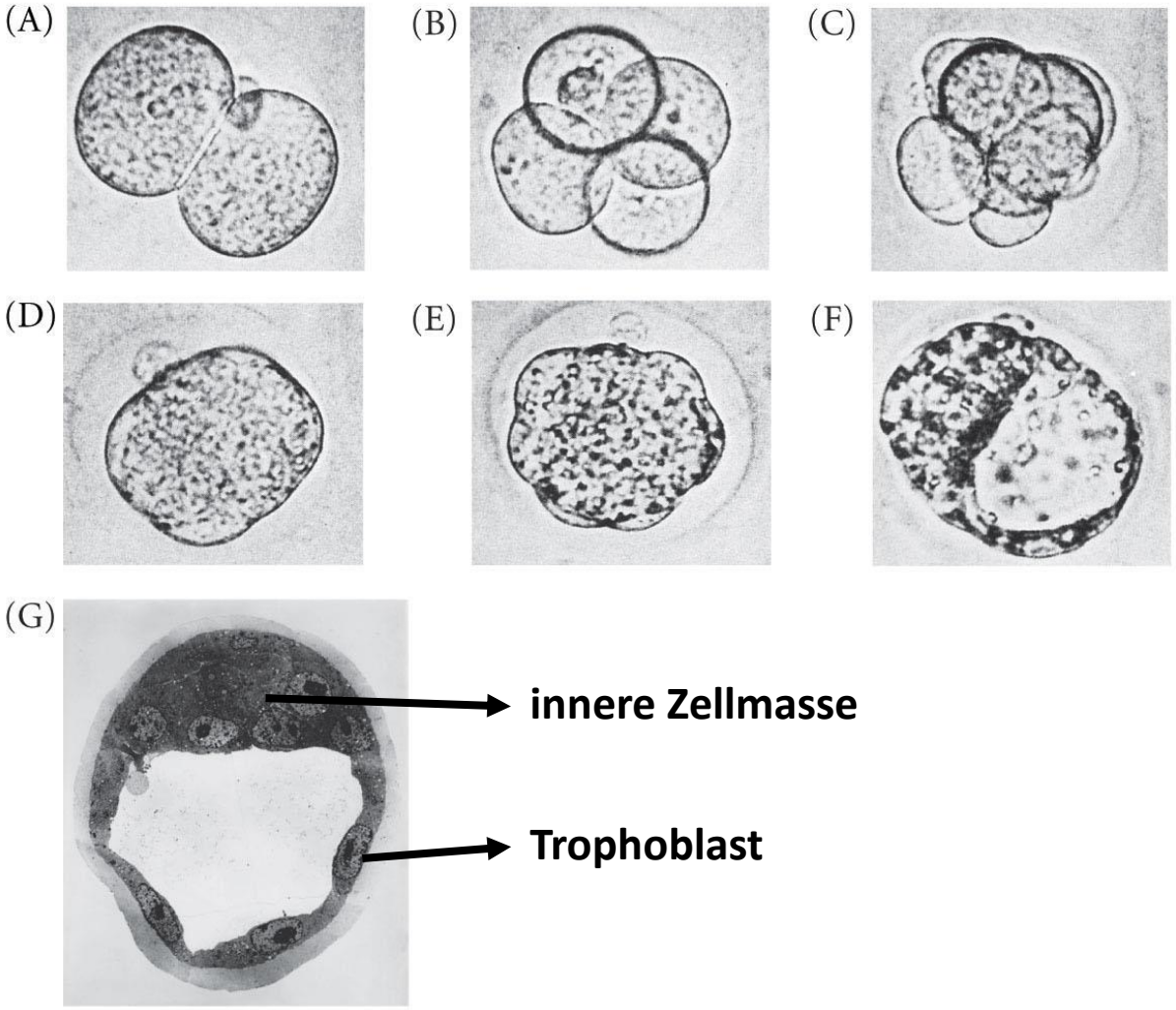
- Furchung total/äqual/rotational
- langsame Embryonalentwicklung: Zellteilung alle ~12-24 h (Krallenfrosch: alle 20 min)
- Embryonale Gene schon ab 2-Zellstadium aktiv, daher keine Mid Blastula Transition

Ovulation bis Implantation



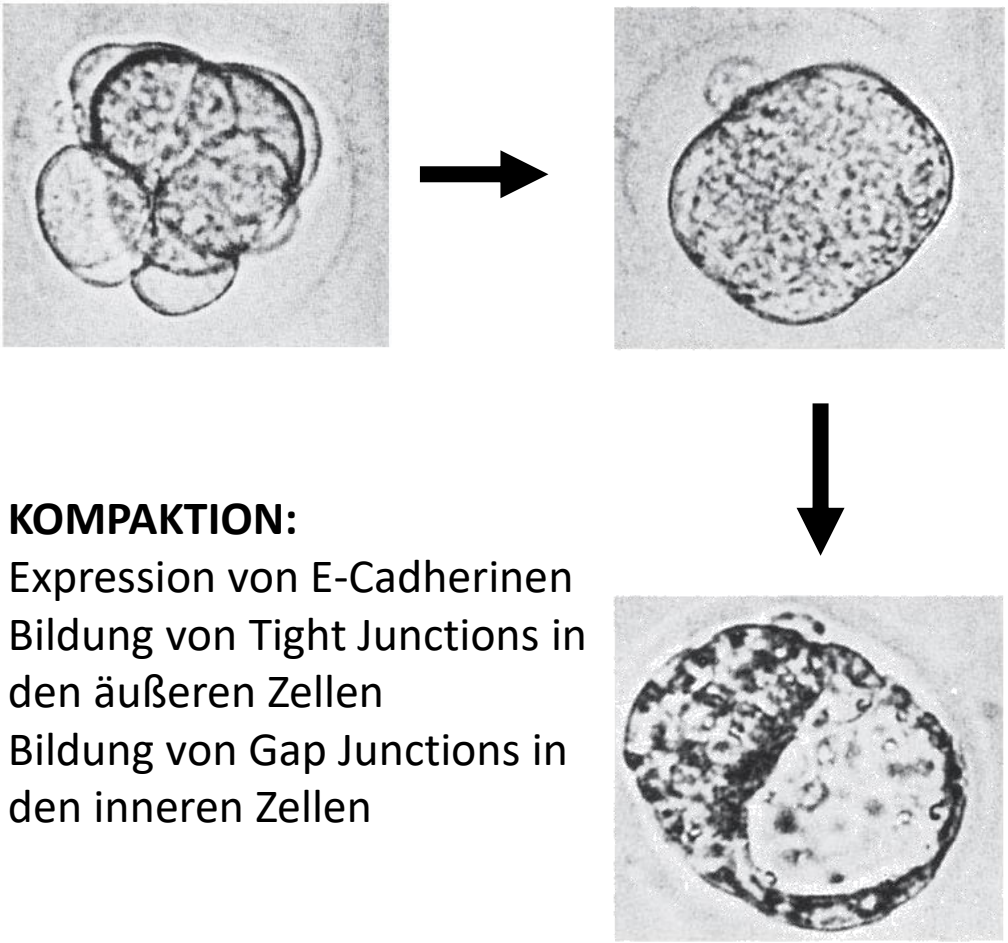
DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, **Figure 11.27** © 2006 Sinauer Associates, Inc.

Furchungsteilungen der Säuger

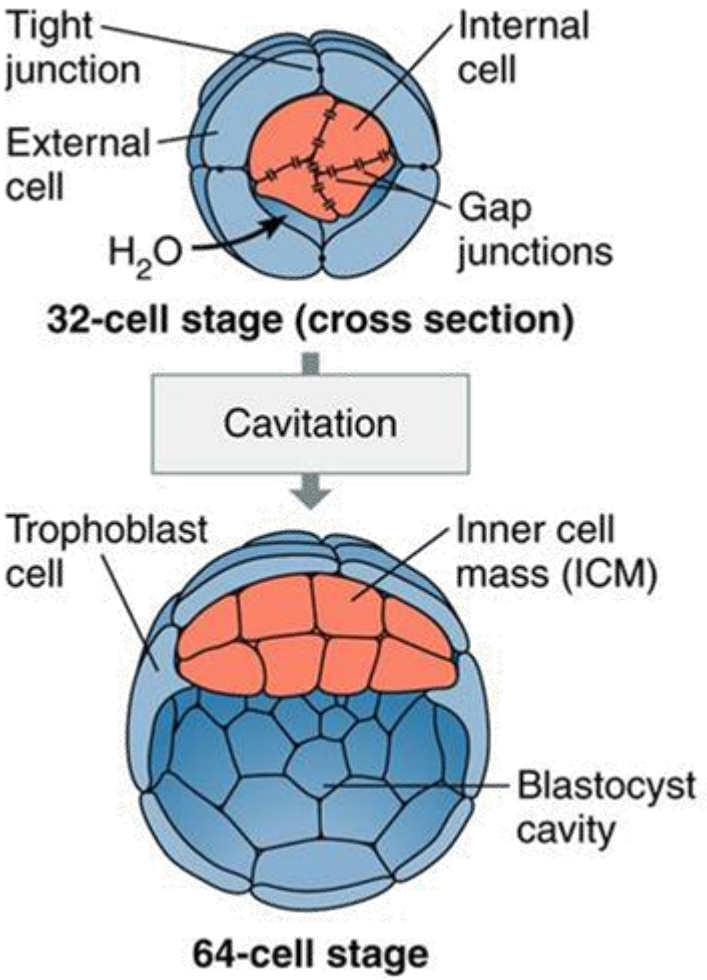


DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 11.29 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

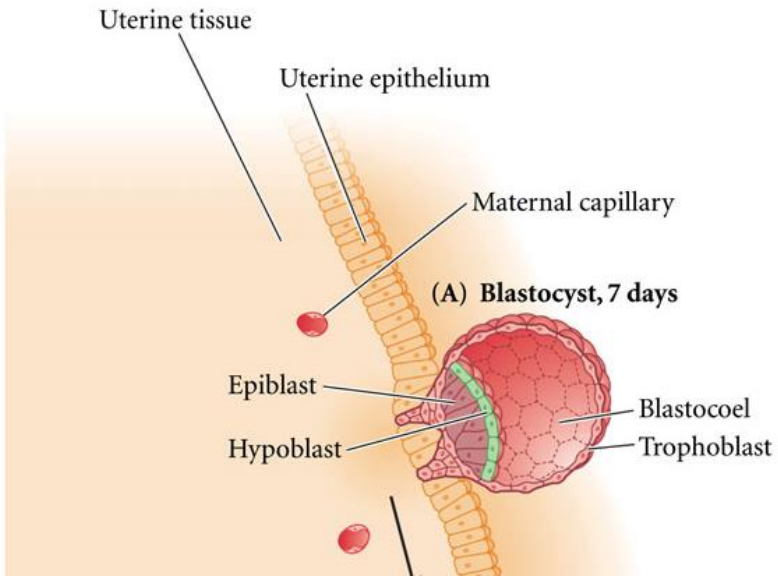
Furchungsteilungen der Säuger



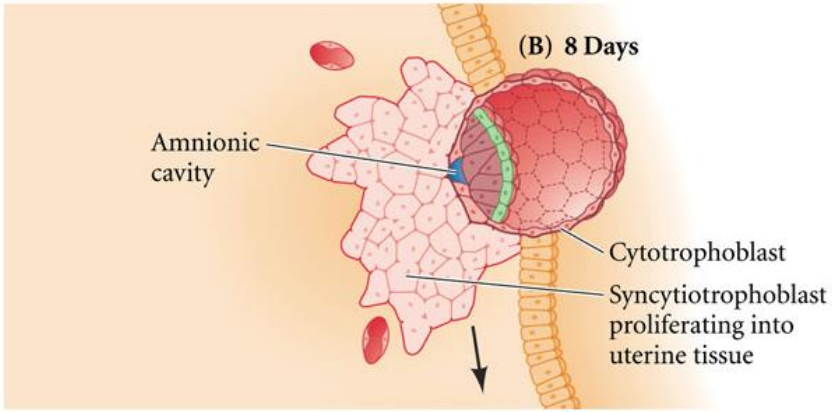
- **KOMPAKTION:**
- Expression von E-Cadherinen
- Bildung von Tight Junctions in den äußeren Zellen
- Bildung von Gap Junctions in den inneren Zellen



Einnistung der Blastocyste (Implantation, Nidation)

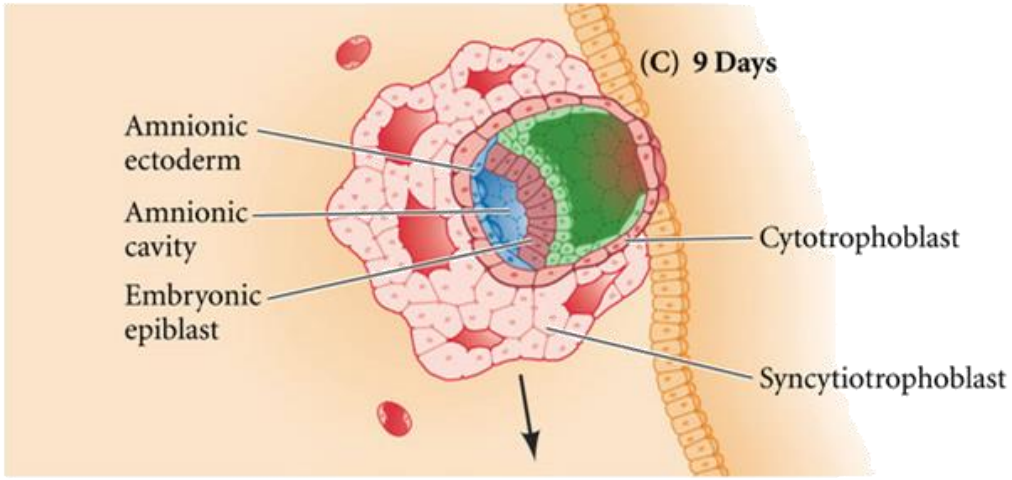


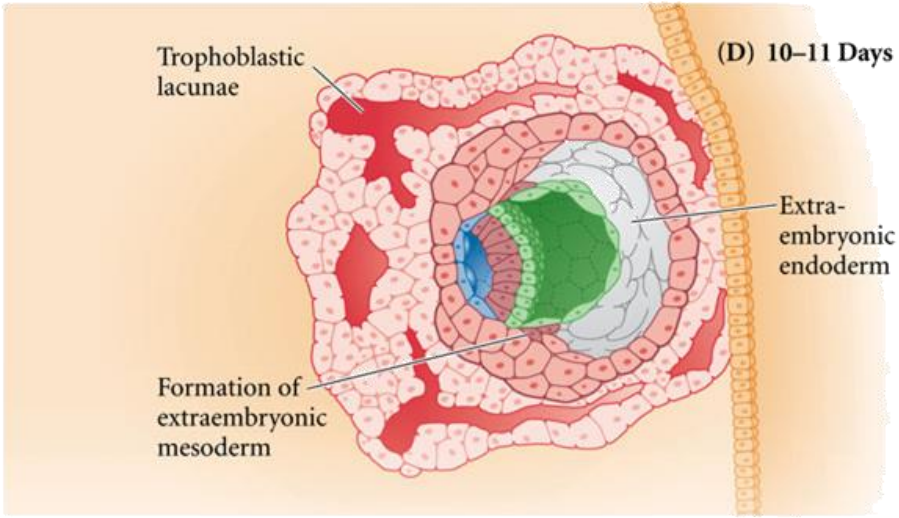
- Bildung des Trophoblasten
- Kontakt mit der Uteruswand



- Bildung des Syncytiotrophoblasten und des Cytotrophoblasten

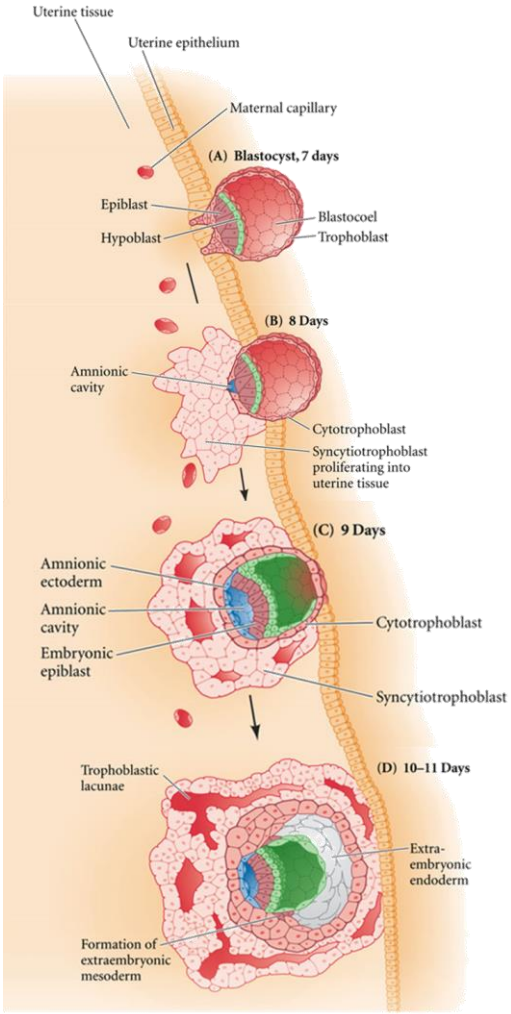
Einnistung der Blastocyste (Implantation, Nidation)

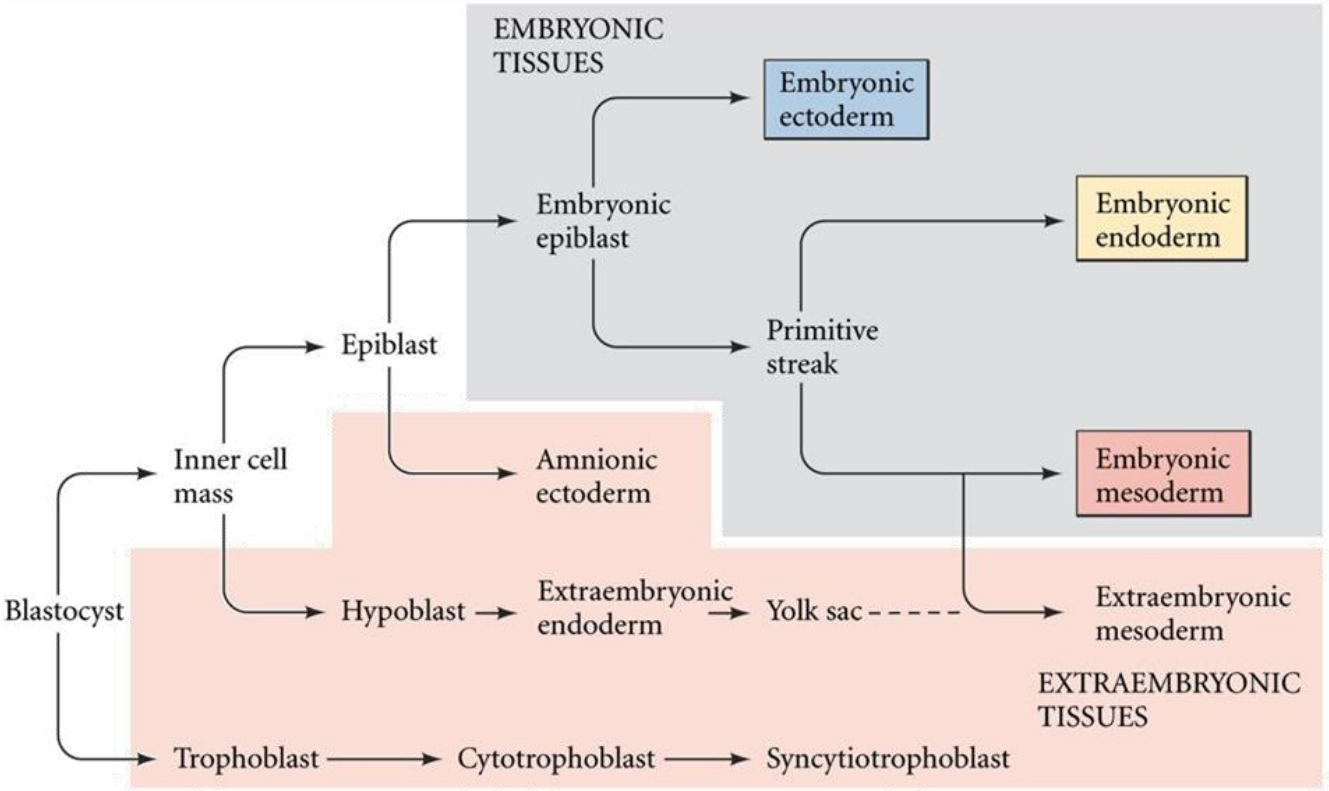




- Bildung des extraembryonalen Meso- und Endoderms
- fortschreitendene Implantation

Einnistung der Blastocyste (Implantation, Nidation)

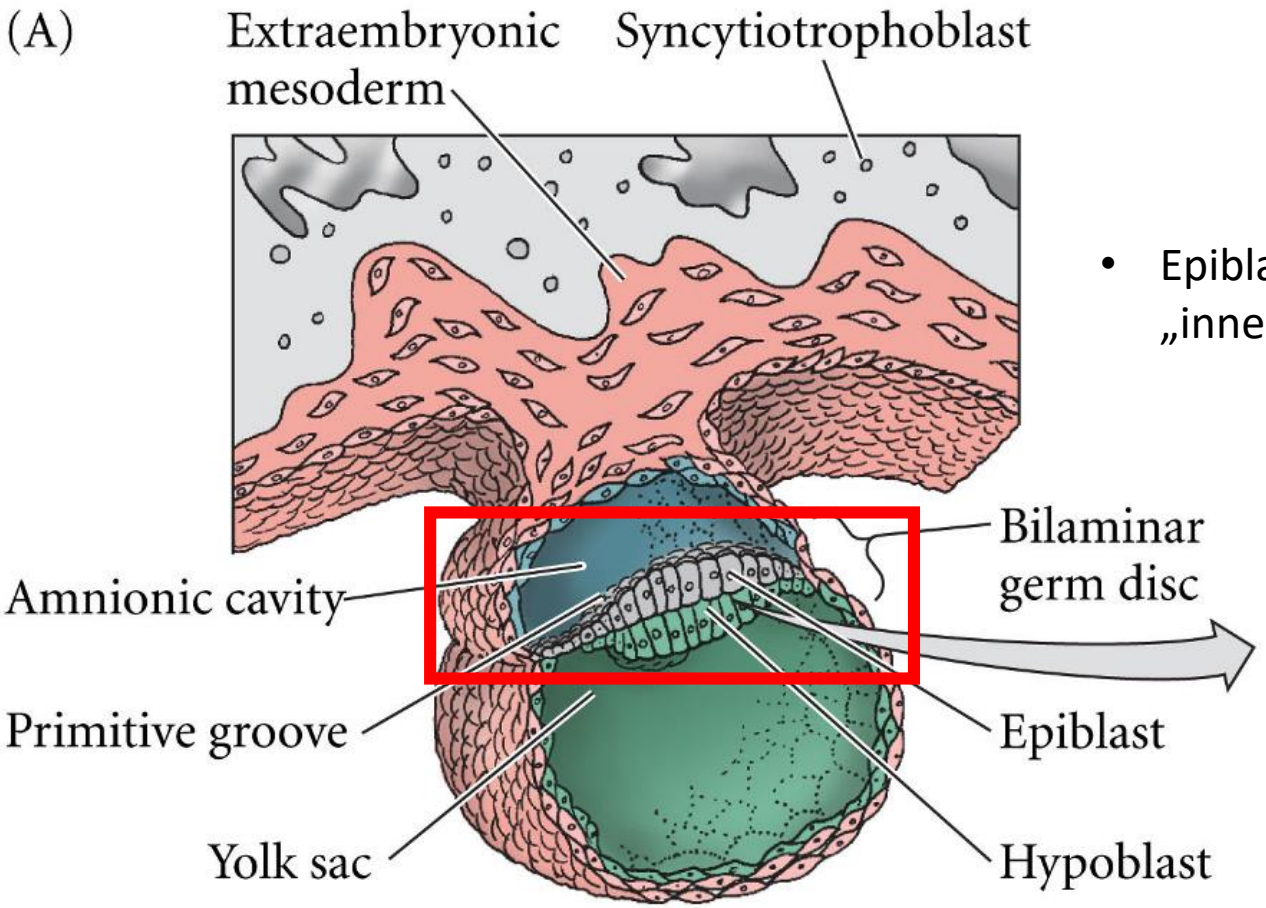




Furchung und Einnistung

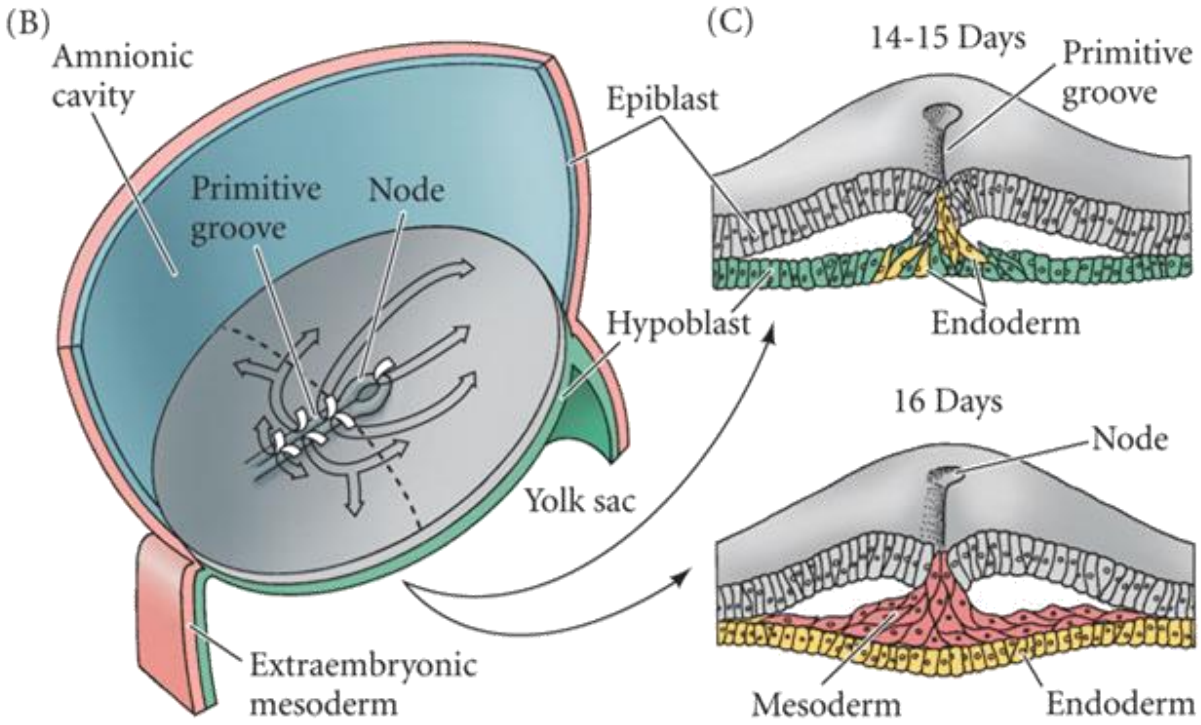
- Die Furchung ist total/äqual und rotational.
- Es findet keine Mid Blastula Transition statt, sondern embryonale Gene sind schon ab 2-Zellstadium aktiv.
- Die Zellen sind bis zum 8-Zellstadium lose verbunden, danach findet eine Kompaktion („Verklebung „) durch Zelladhäsionsmoleküle statt.
- Blastocyste nistet sich in Gebärmutterwand ein (Nidation).
- Es entsteht der Trophoblast und die innere Zellmasse.
- Der Trophoblast unterteilt sich in die polyploiden Syncytiotrophoblasten, die in die Gebärmutterwand einwachsen, und die diploiden Cytotrophoblasten, die Zotten bilden und die Verbindung zu den mütterlichen Blutlakunen herstellen.

Gastrulation



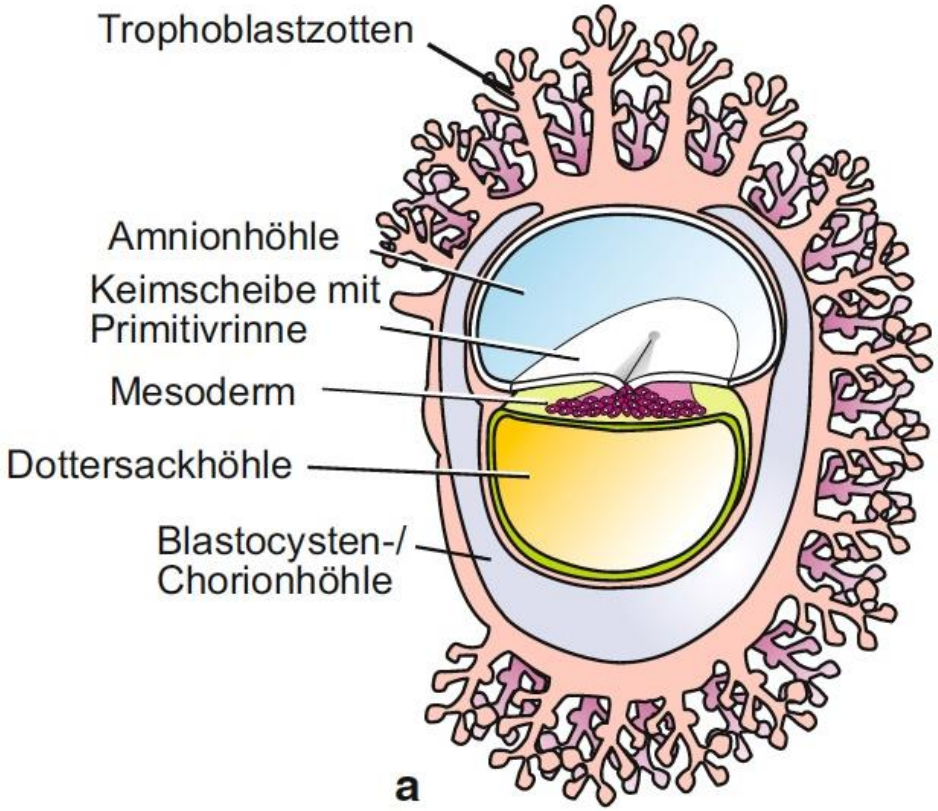
- Epiblast und Hypoblast bilden die „innere Zellmasse“

Gastrulation



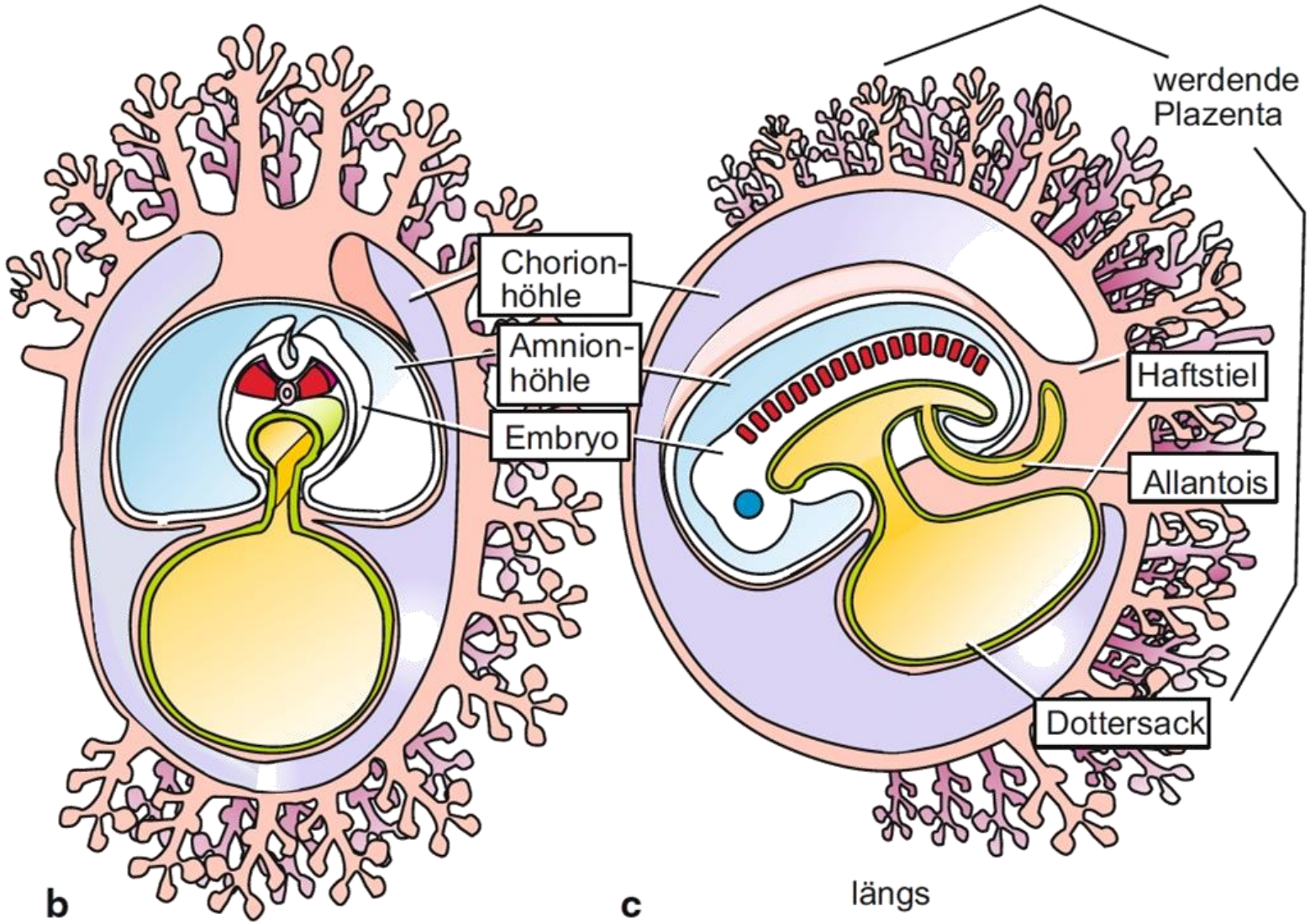
- ähnelt Gastrulation beim Huhn
- Keimscheibe + Primitivrinne
- Mesoderm + Endoderm wandern durch Primitivrinne ein

Gastrulation



- Animationen zur Gastrulation
  - https://www.youtube.com/watch?v=iHmBIJs77ZQ
  - https://www.youtube.com/watch?v=rDexsMXOu6s

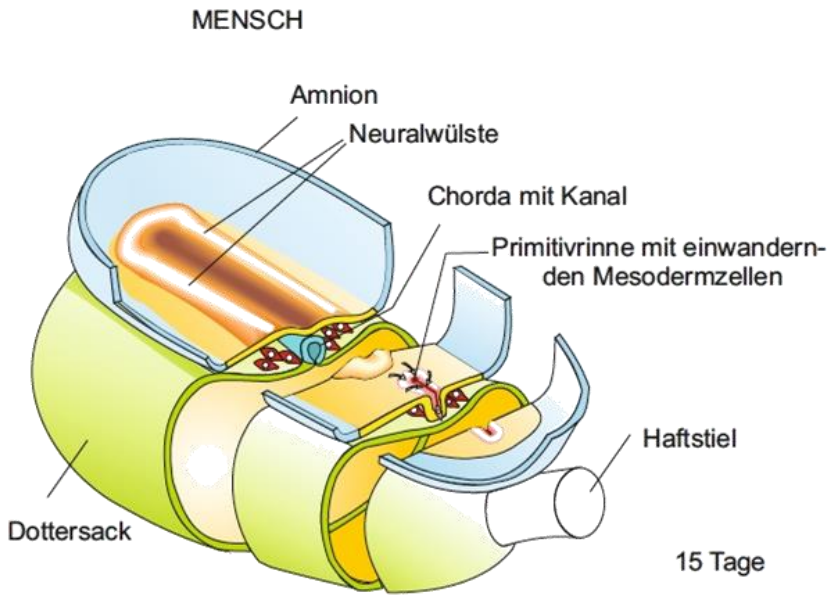
Gastrulation

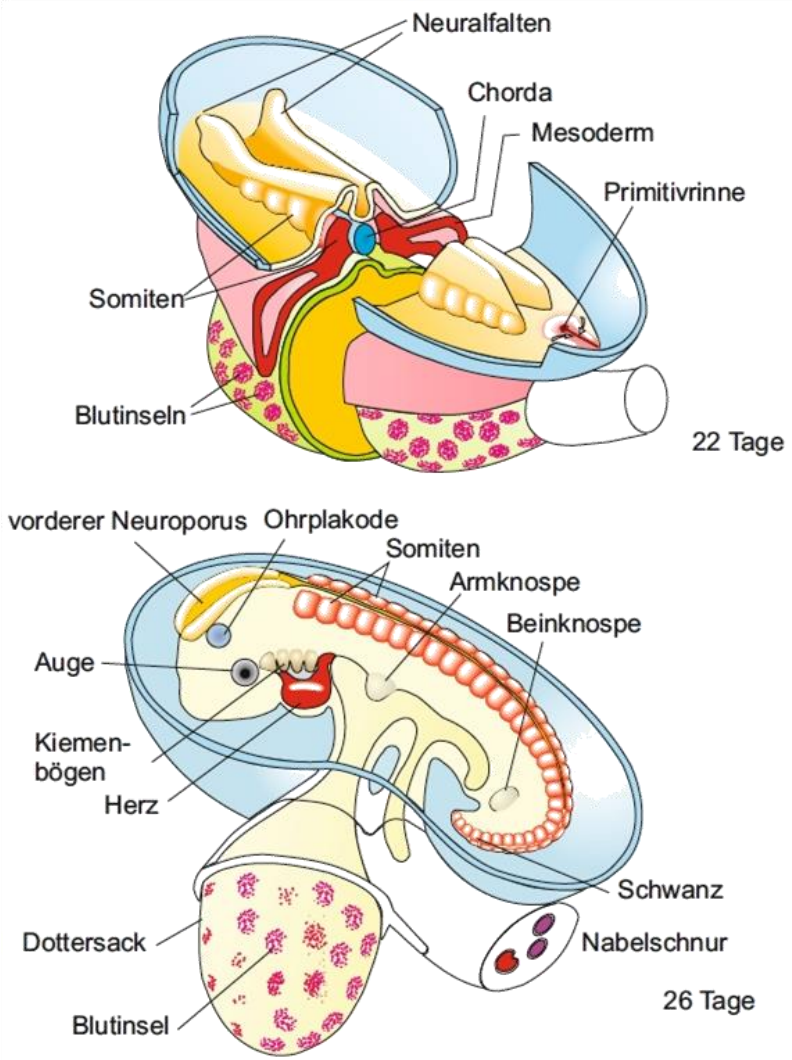


Gastrulation

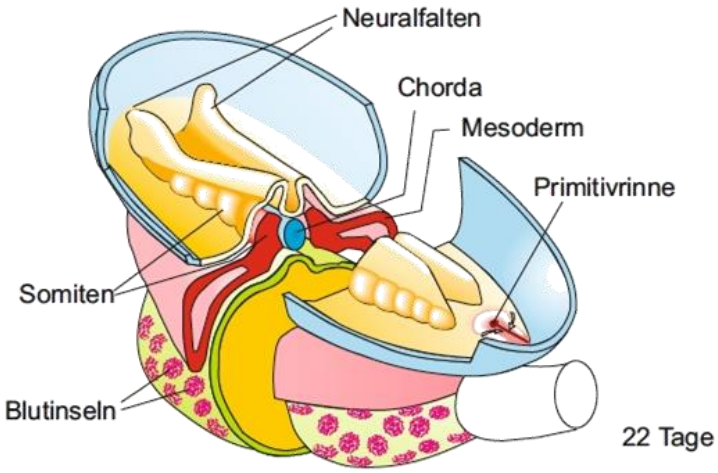
- Die Blastozyste besteht aus Trophoblast und die innere Zellmasse.
- Die innere Zellmasse teilt sich in Epiblasten und Hypoblasten.
- Der Epiblast (Keimscheibe) allein bildet den Embryo. Durch die Primitivrinne wandern Mesoderm und Entoderm in den Hohlraum zwischen Epiblast und Hypoblast ein.
- Der Embryo entwickelt sich in der Amnionhöhle, der späteren Fruchtblase.
- Die Neurulation beginnt am Primitivknoten von posterior nach anterior.

Neurulation und Organogenese



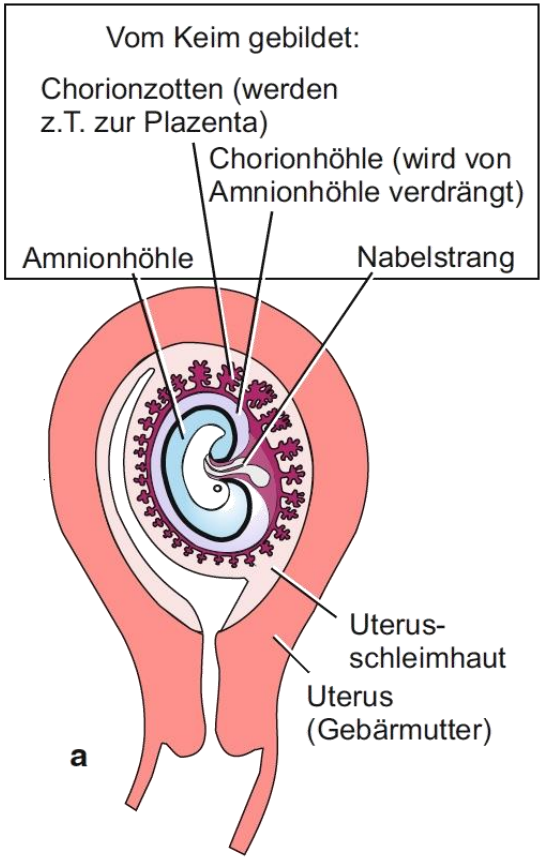


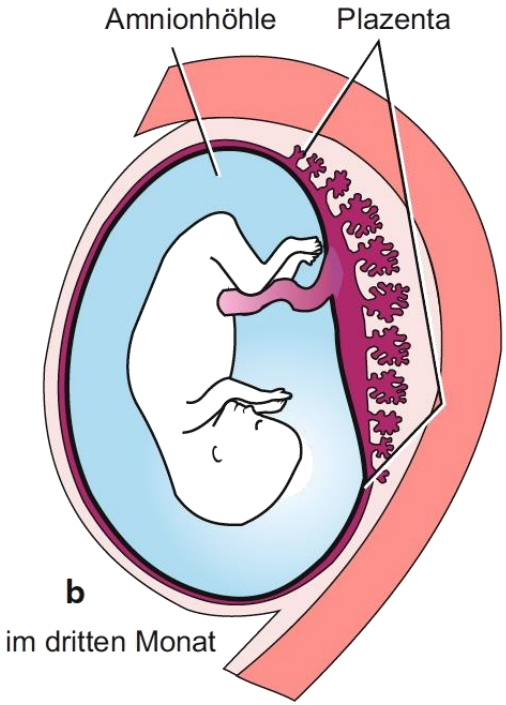
Anenzephalie



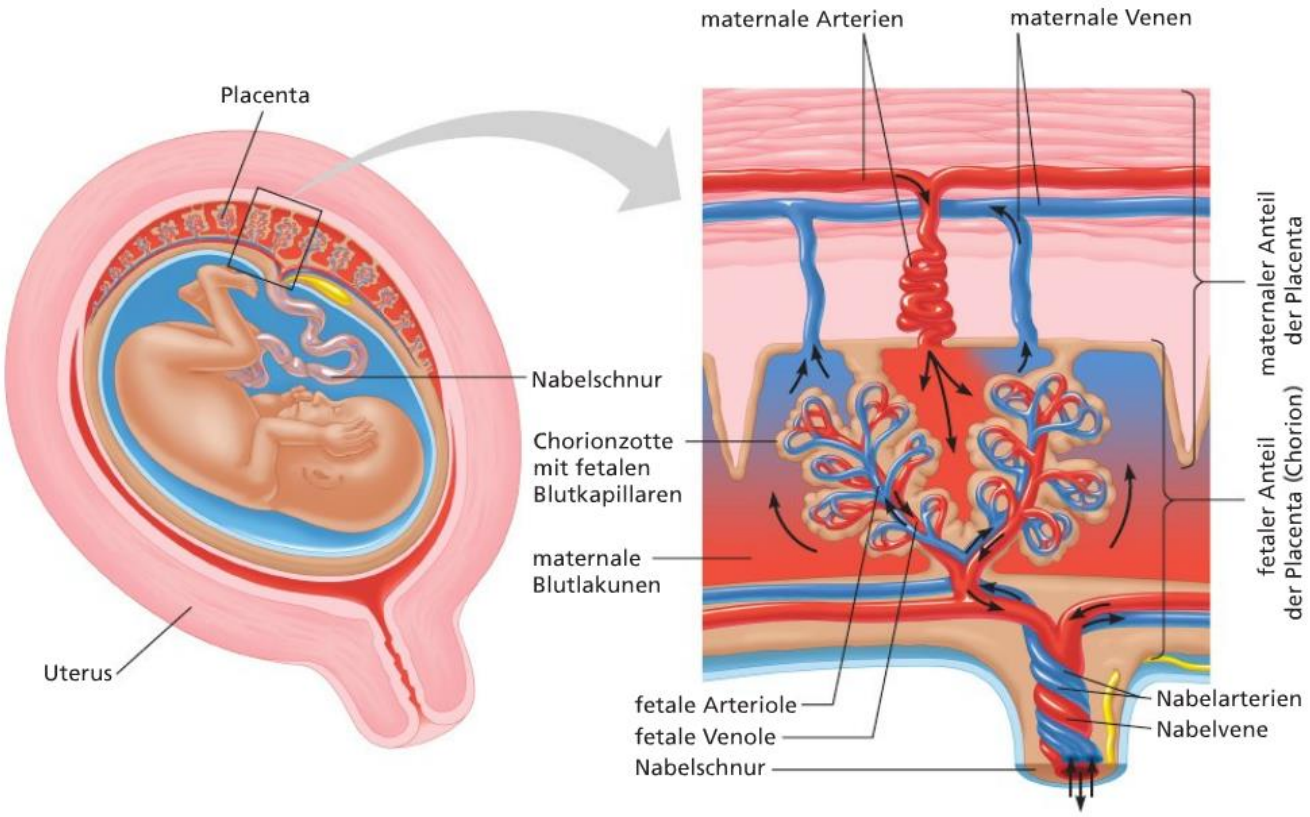
- Neuralfalten schließen sich nicht
- Gehirn wird nicht abschließend entwickelt

Plazenta


Vom Keim gebildet:
Chorionzotten (werden z.T. zur Plazenta)
Chorionhöhle (wird von Amnionhöhle verdrängt)
Amnionhöhle
Nabelstrang
Uterus-schleimhaut
Uterus (Gebärmutter)
a


Amnionhöhle
Plazenta
b
im dritten Monat

Plazenta



- Partielle Auflösung der Uteruswand: Bildung von lakunären Höhlen.

Die Entwicklung des Menschen

(a) **5 Wochen.** Dieser nur etwa 1 cm lange Embryo verfügt bereits über Gliedmaßenknospen und die Anlagen von Augen, Herz, Leber sowie allen anderen Organen.

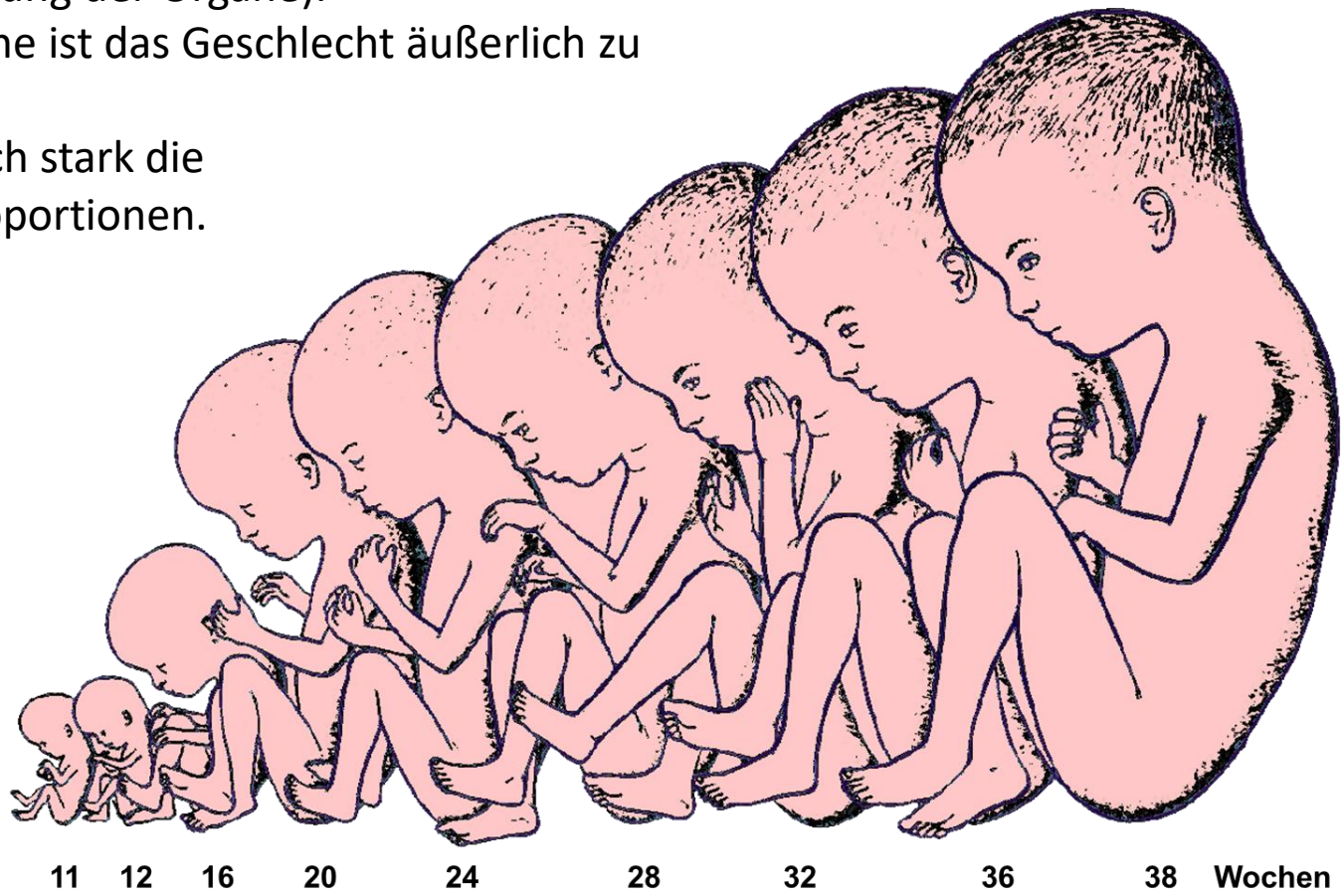
(b) **14 Wochen.** Wachstum und Entwicklung des Keims, der nun als Fetus bezeichnet wird, setzen sich im zweiten Schwangerschaftstrimester fort. Dieser Fetus ist etwa 6 cm lang.

(c) **20 Wochen.** Der Fetus ist jetzt fast 20 cm lang und nimmt aufgrund des beschränkten Platzes die typische Fetalhaltung ein (Kopf an den Knien).

- Embryonalentwicklung des Menschen endet mit der 8. Woche.
- Anlage aller Organe und der Extremitäten ist abgeschlossen.

Die Entwicklung des Menschen

- Fötalperiode: ab 9. Woche bis zur Geburt (Ausdifferenzierung der Organe).
- Ab der 12. Woche ist das Geschlecht äußerlich zu bestimmen.
- Es verändern sich stark die Kopf-Rumpf-Proportionen.



Neurulation und fötale Entwicklung

- Die Neurulation beginnt am Primitivknoten von posterior nach anterior.
- Die Embryonalentwicklung ist nach 8 Wochen abgeschlossen. Dann sind alle Organe angelegt.
- Die Fötalentwicklung besteht größtenteils aus der Reifung und Differenzierung der Organe und Wachstum

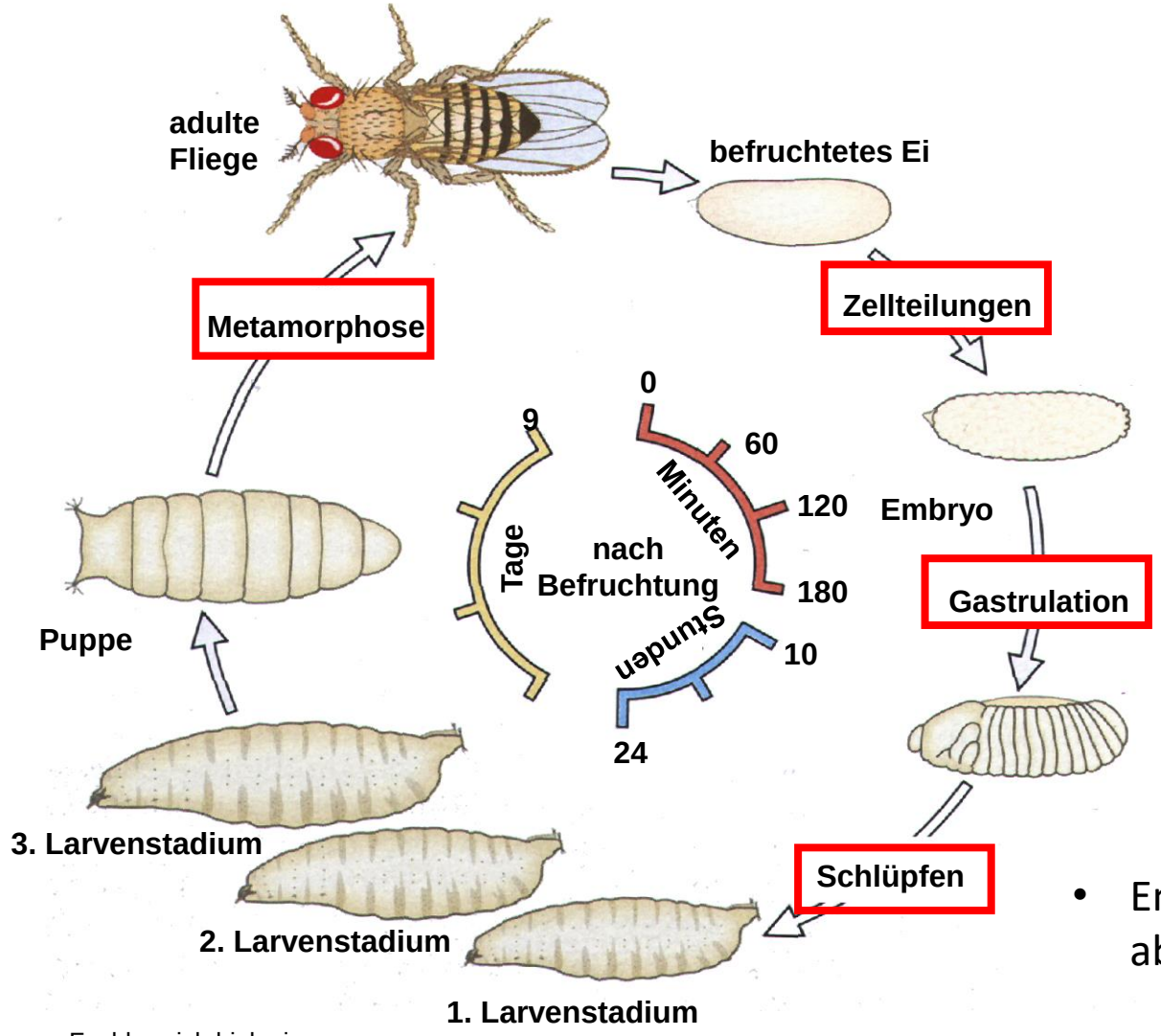
Drosophila melanogaster

- Taufliege = Fruchtfliege
  (Englisch: "fruit fly")

- Genomgröße: 180 Mbp, 13.601 Gene
- 4 Chromosomenpaare (3 Autosomen + XY)
- ~100.000 somatische Zellen

- Generationszeit: < 2 Wochen,
  Lebenserwartung: 2-3 Wochen

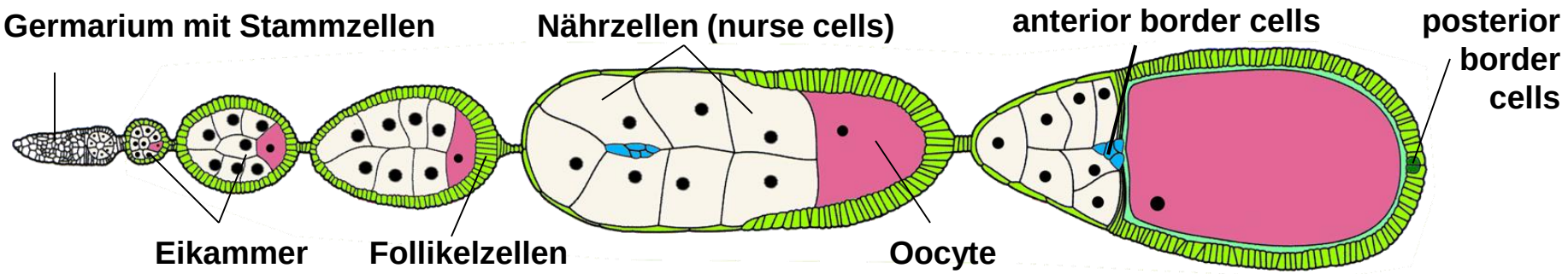
Lebenszyklus



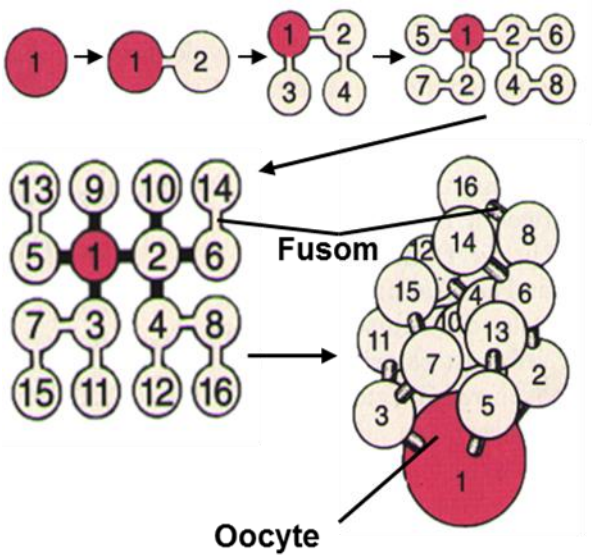
- Embryonalentwicklung nach 24 h abgeschlossen

Abb. aus: Wolpert: Principles of Development, 3rd ed.

Ooogenese



- Schnelle Oogenese => 12 h
- in 4 Teilungsschritten gehen aus einer Urkeimzelle 1 Eizelle (Oocyte) und 15 Nährzellen (Ammenzellen) hervor
- alle 16 Zellen bleiben über Nährschläuche (Fusome) verbunden
- Nährzellen amplifizieren Genom (500 – 1000 Kopien)
- Proteine, Lipide, Kohlenhydrate, mRNA der maternalen Faktoren (nanos und vasa) + Faktoren für die a/p Symmetrie



Befruchtung

Micropyle

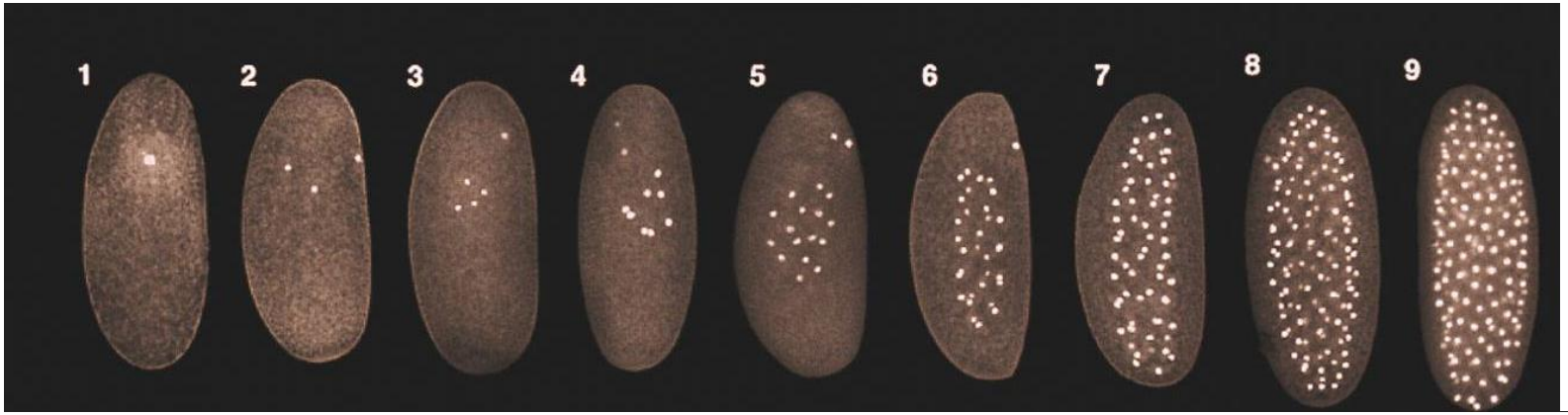
- Eigröße: 0,5 mm

- Spermien aus Receptaculum seminis (Samentasche); ♀ speichert Spermien verschiedener ♂♂.

- Spermien treten durch Micropyle ein, versperren anschließend den Zugang für weitere Spermien. Dies verhindert Polyspermie.

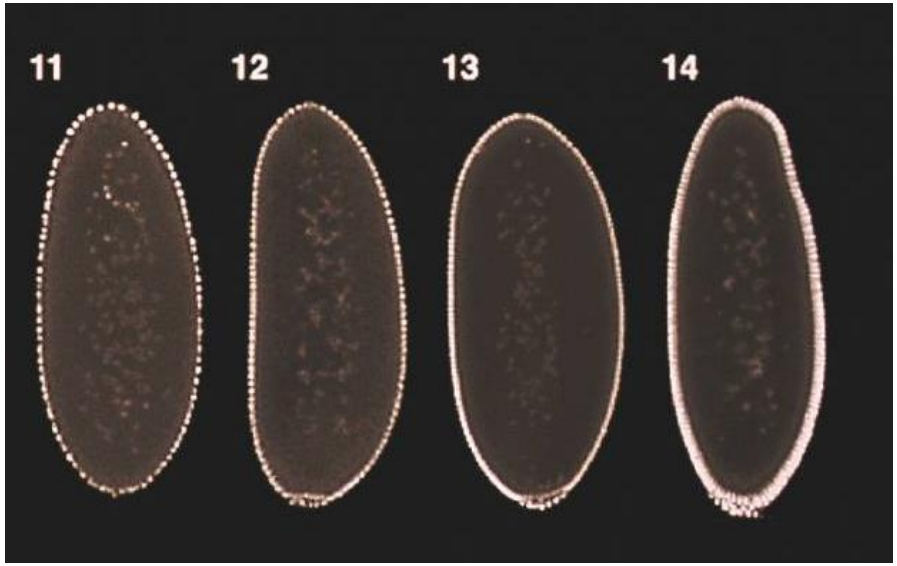
Furchung

- Kernteilungen 1- 9: keine Zellteilungen ("Syncytium") => "Energiden"
- Kernteilung 10: Zellkerne wandern in Peripherie; einige bleiben im Dotter zurück: Vitellophagen (=> Abbau des Dotters)



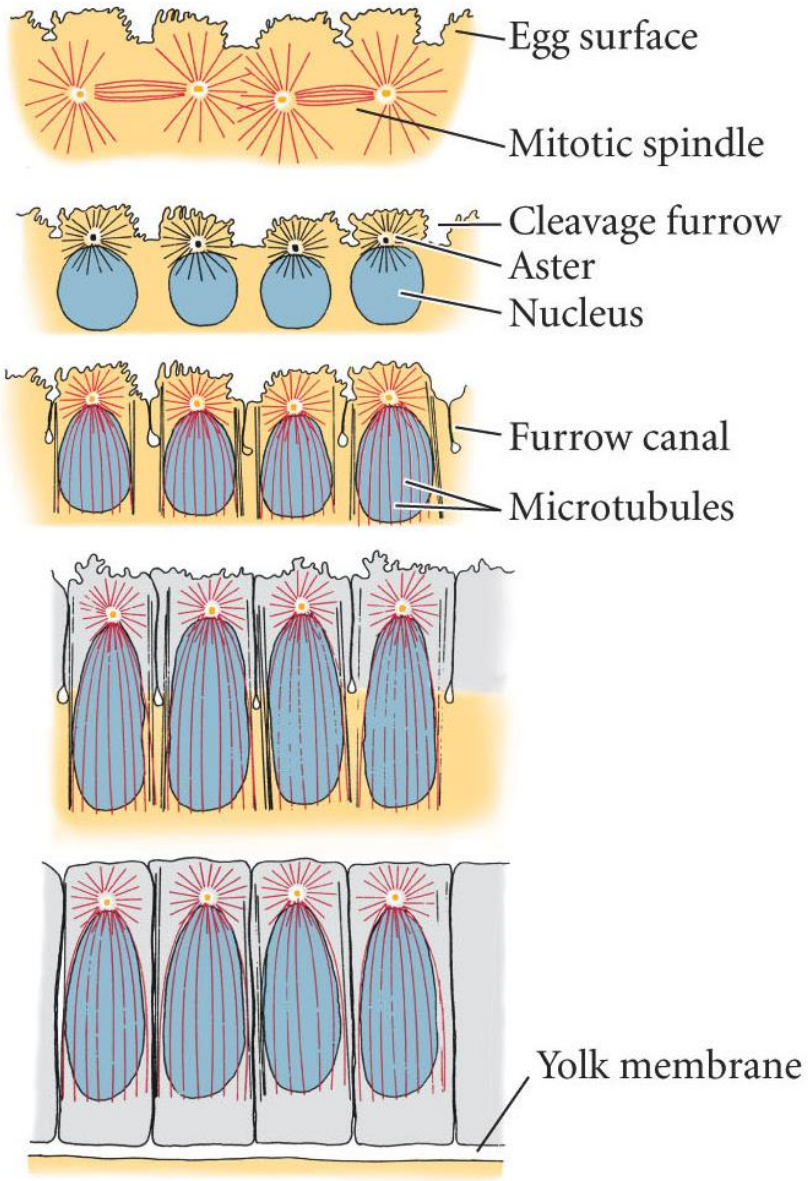
Furchung

- Kernteilung 11: Bildung der Polzellen (= Urkeimzellen) am posterioren Pol
- Kernteilung 13: Zelluläres Blastoderms, mid blastula transition : Aktivierung zygotischer Gene



Furchung

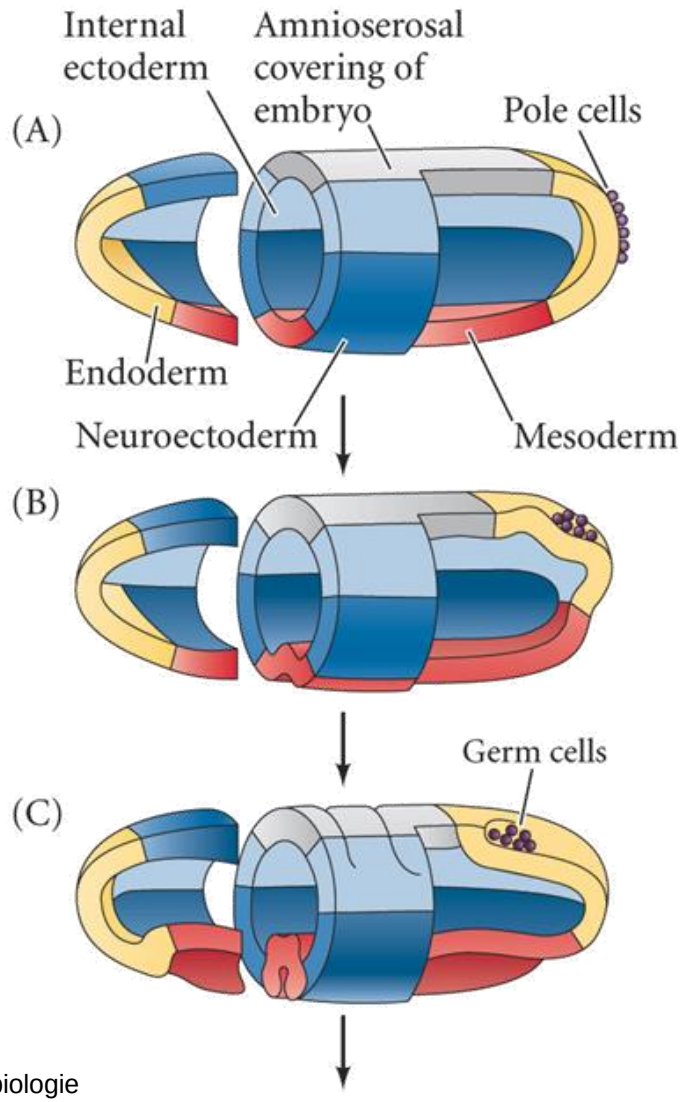
- Superfizielle Furchung

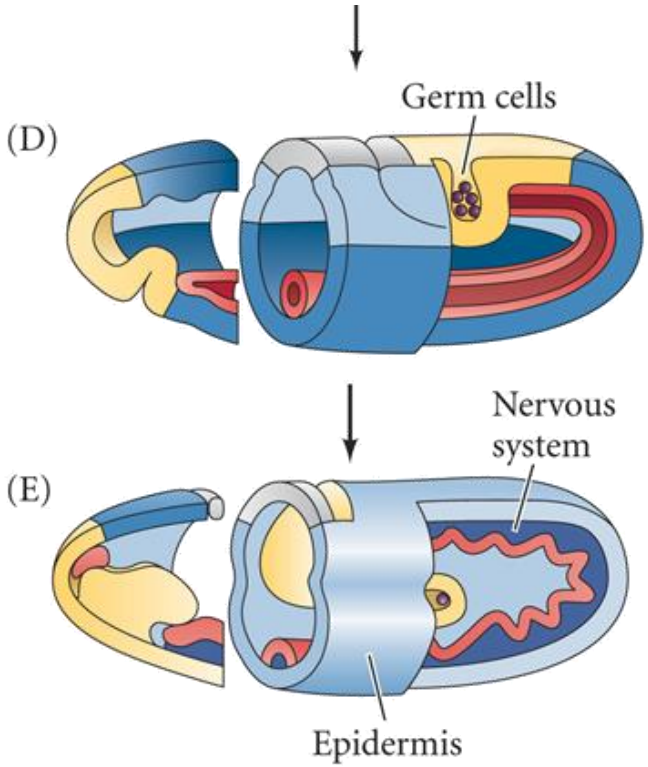


Oogenese, Befruchtung und Furchung

- Eier bestehen aus Eizelle, Nährzellen und Follikelzellen.
- Die Eizelle wird durch ein (sehr großes) Spermium befruchtet, das durch die Micropyle in das Ei eindringt.
- Es gibt eine superfizielle Furchung, d.h. zunächst teilen sich nur die Zellkerne, ohne das neue Zellmembranen gebildet werden.
- Nach dem 10. Kernteilungszyklus wandern die Kerne in die Peripherie der Eizelle, wo sie mit Zellmembran umschlossen werden und das Blastoderm werden.
- Am posterioren Ende bilden sich Polzellen.
- Es kommt zur Mid Blastula Transition, also der Aktivierung embryonaler Gene, die die weitere Entwicklung steuern.

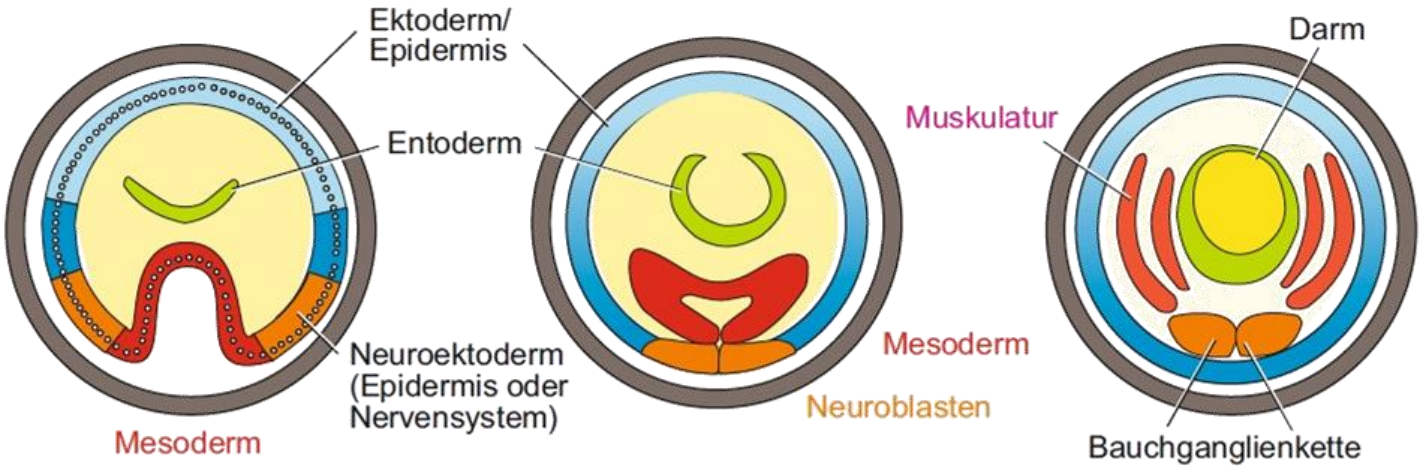
Gastrulation

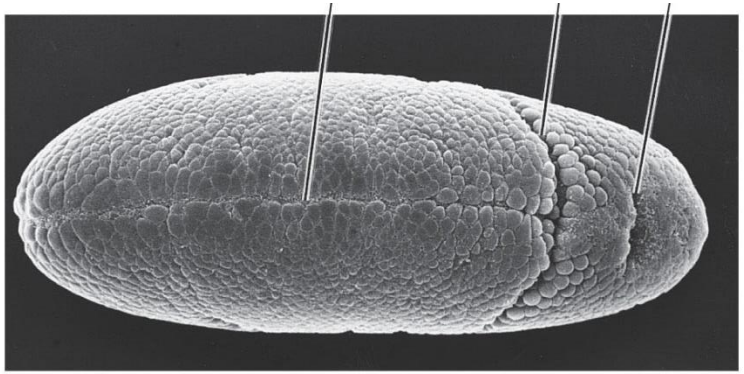




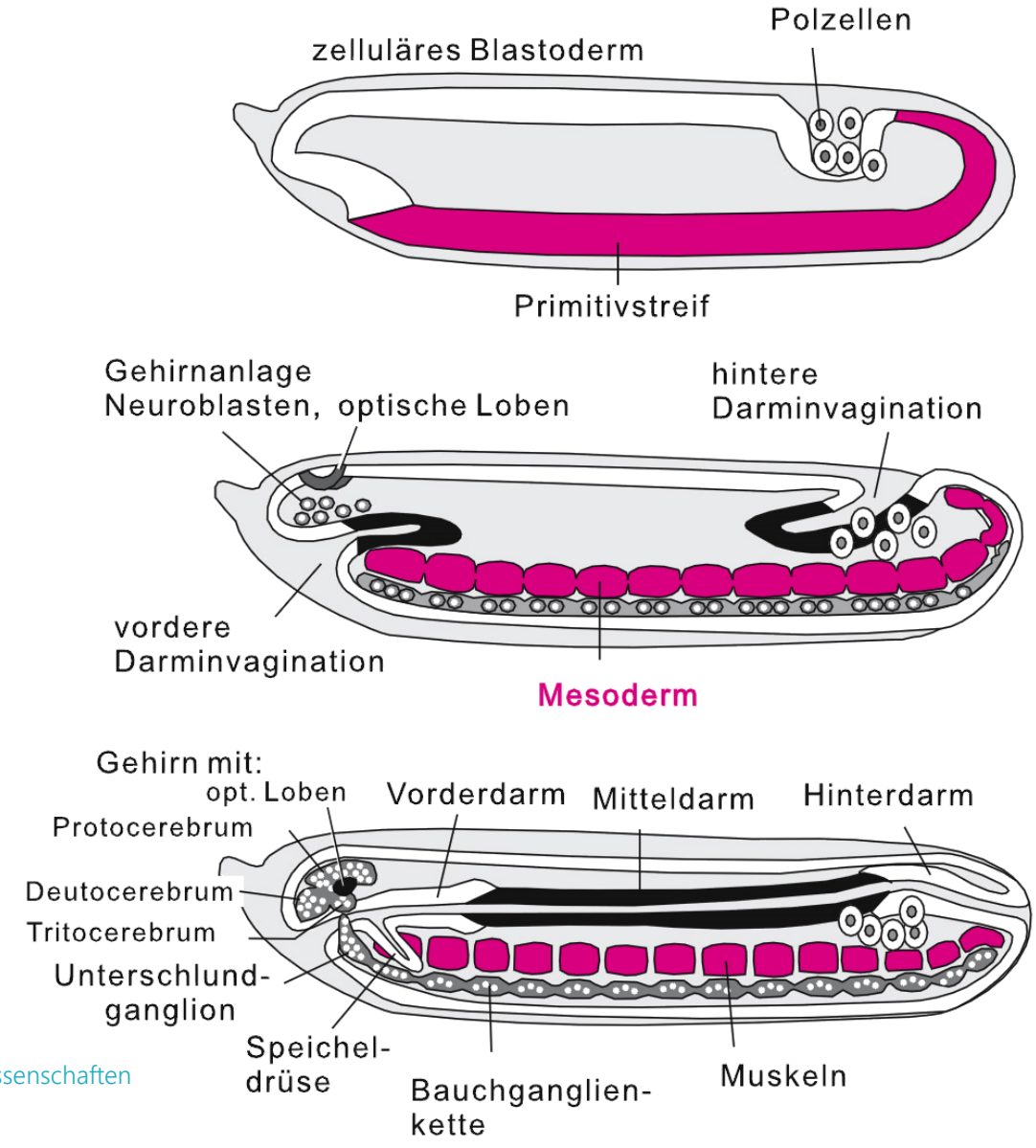
- Körper wird von der Ventralseite geformt, ento- und meso-dermales Gewebe wird an verschiedenen Seiten nach innen verlagert.

Gastrulation





Gastrulation



Gastrulation

- Die Gastrulation geht von der Ventralseite (Primitivrinne) aus.
- Dort wandert das Mesoderm nach innen. Es folgt Neuroektodermales Gewebe, aus dem das ventrale Nervensystem (Bauchmark) hervorgeht.
- Sowohl am anterioren Ende als auch am posterioren Ende stülpt sich das Entoderm ein, wächst aufeinander zu und schließt sich letztendlich zum Intestinaltrakt.
- Die Polzellen werden ebenfalls invaginiert und differenzieren zu Keimzellen.

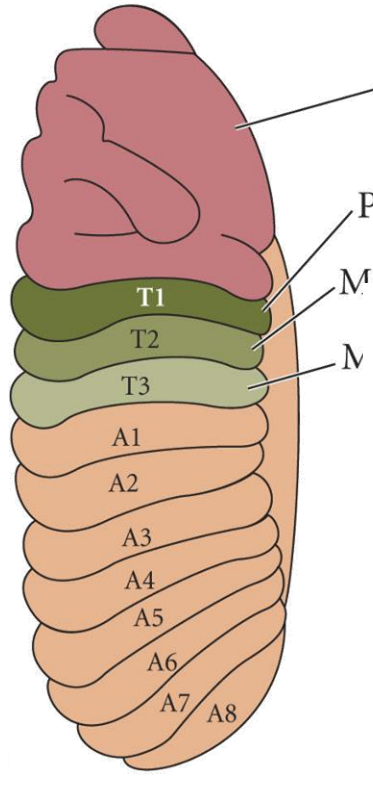
Segementierung

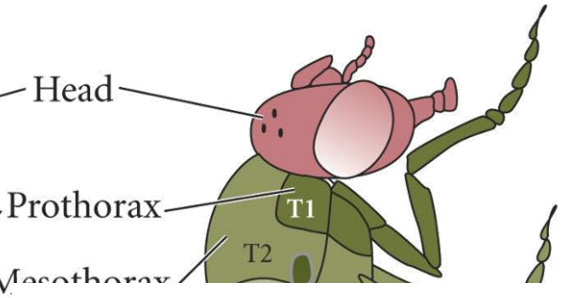
TAGMATA

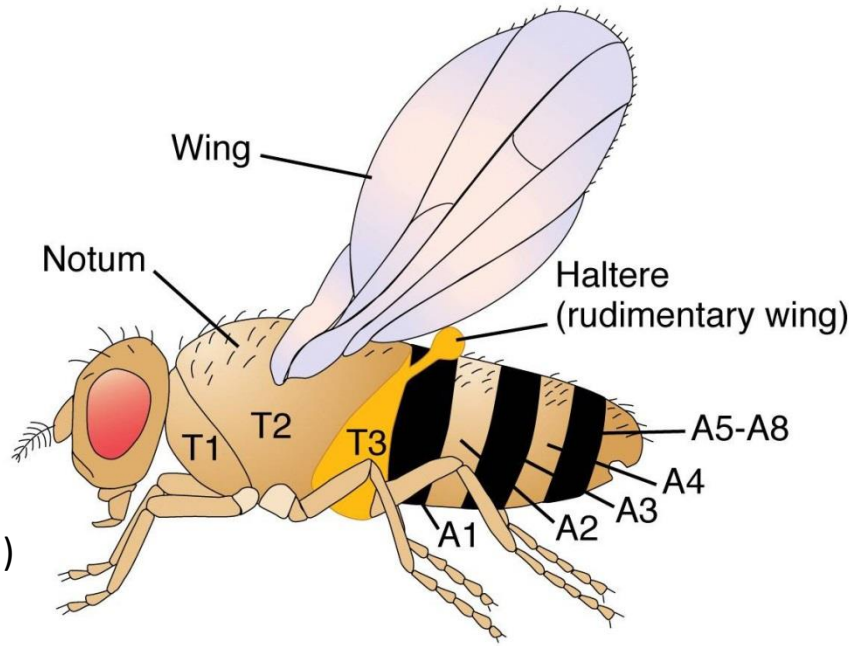
Kopf:
7 Segmente

Thorax:
3 Segmente

Abdomen:
9 Segmente



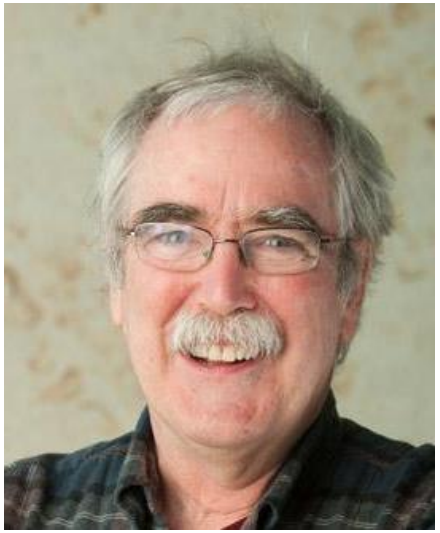




- Segmentaler Bauplan: Typisch für Arthropoda (cf. "Articulata")
- 3 Tagmata: Kopf, Thorax, Abdomen
- Die Thoracalsegmente können über ihre Anhänge definiert werden:

T1: nur Beine, T2: Flügel + Beine, T3: Halteren + Beine

Mutanten-Screens

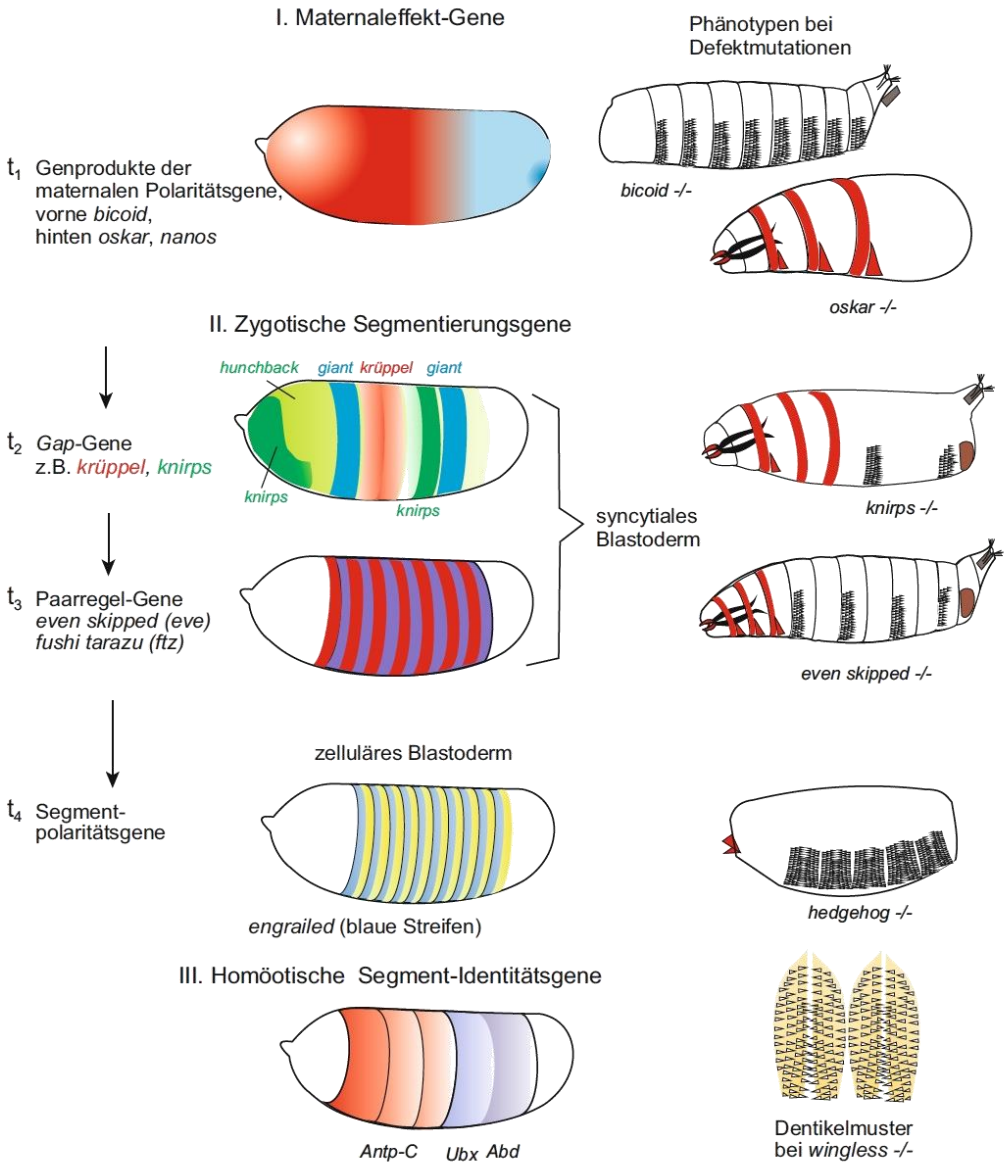


Eric Wieschaus

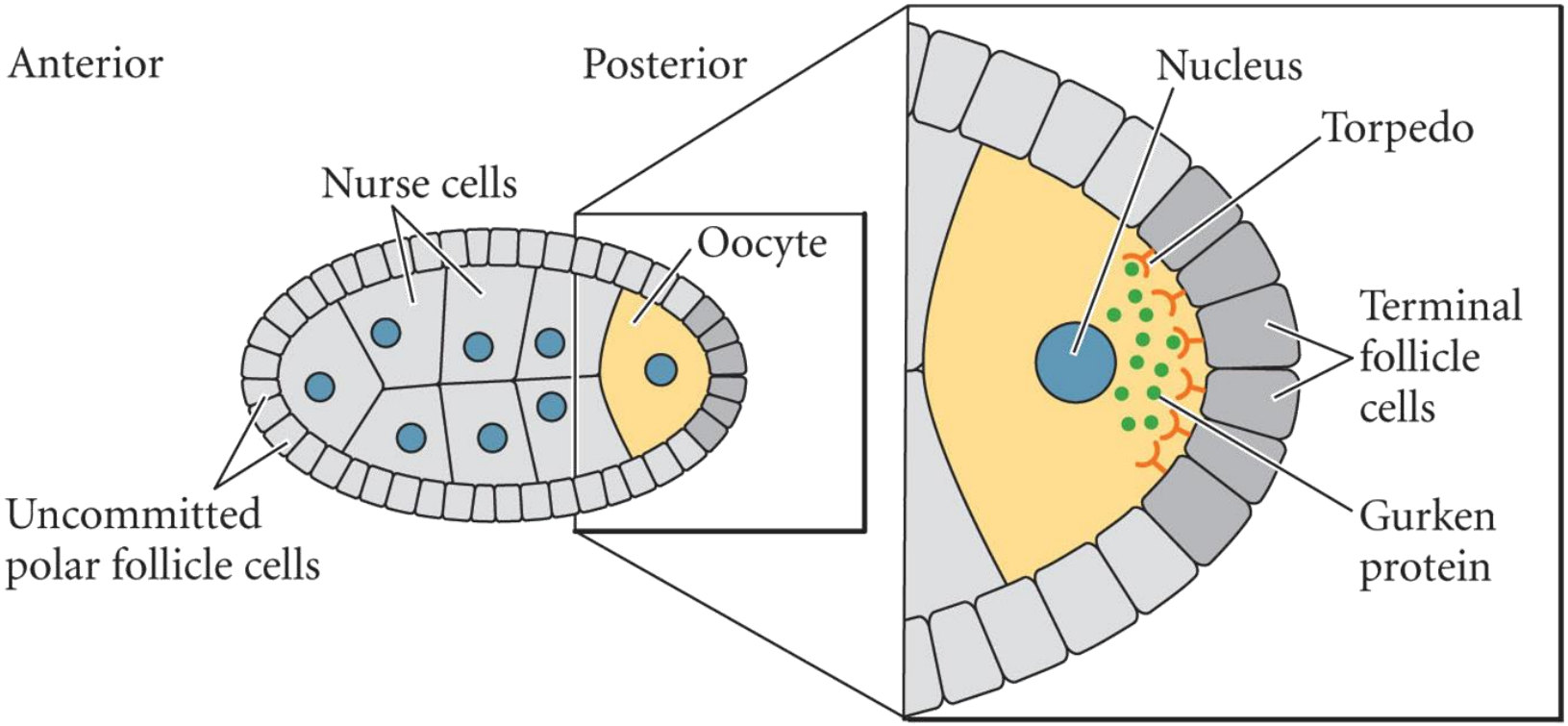
Christiane Nüsslein-Volhard

- Nobelpreis für Physiologie und Medizin 1995: Christiane Nüsslein-Volhard, Eric Wieschaus + Edward Lewis ("Für ihre grundlegenden Erkenntnisse über die genetische Kontrolle der frühen Embryoentwicklung")

Achsenbildung und Segmentierung



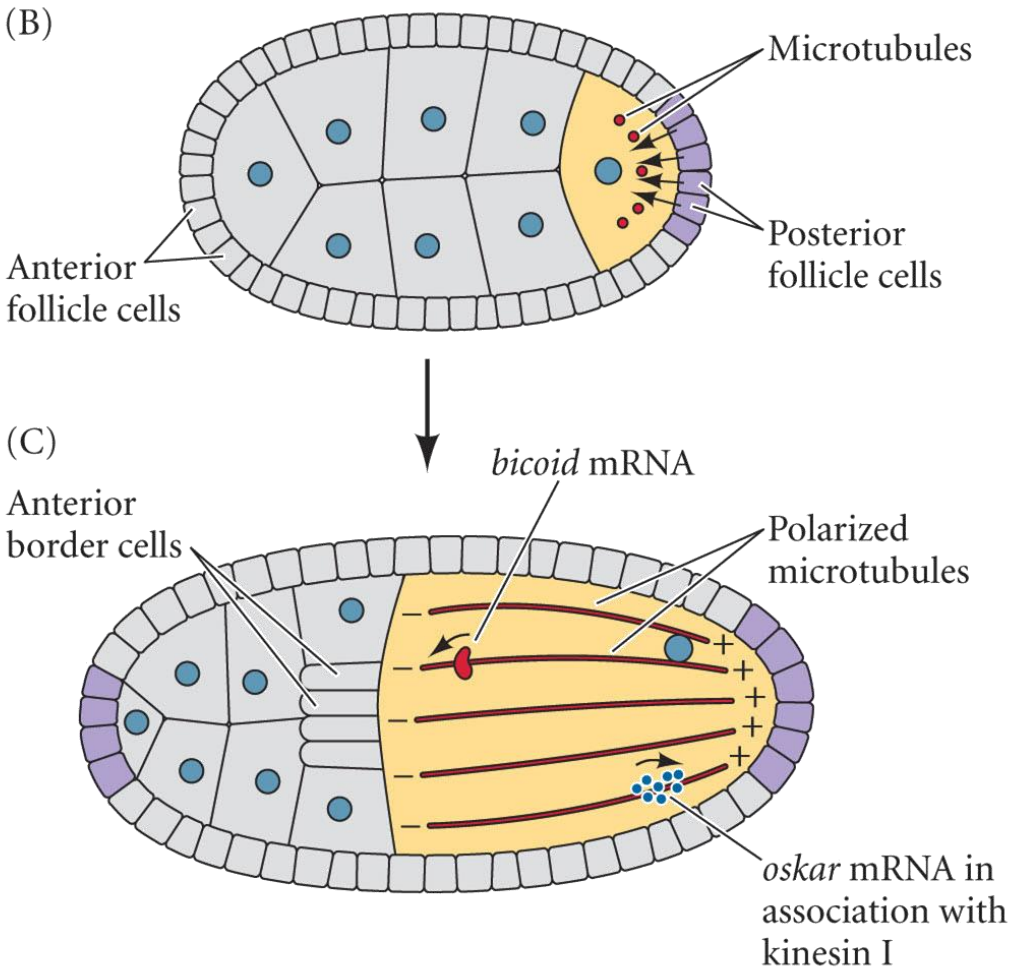
Festlegung der A/P-Achse



- Oocytenkern lokalisiert posterior. Synthetisiert gurken mRNA.
- gurken mRNA wird translatiert; Gurken-Protein bindet an Torpedo-Proteine posterior.

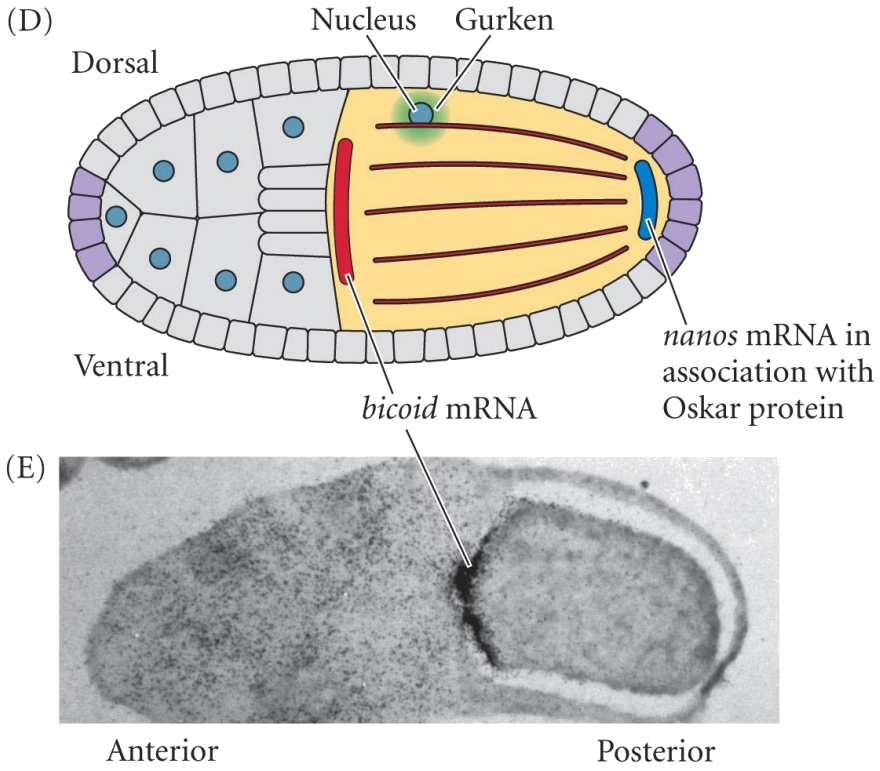
Festlegung der A/P-Achse

- Posteriore Zellen aktivieren Protein Kinase A, dieses sorgt dafür, dass den auswachsenden +-Pol der Mikrotubuli posterior lokalisiert.
- Mikrotubuli wachsen aus => (-)-Pol schiebt sich nach anterior.
- bicoid mRNA bindet an Dynein, das am nicht-auswachsenden (-)-Pol bindet, und wandert anterior.
- oskar mRNA assoziiert mit Kinesin I und wird entlang der MT posterior transportiert.

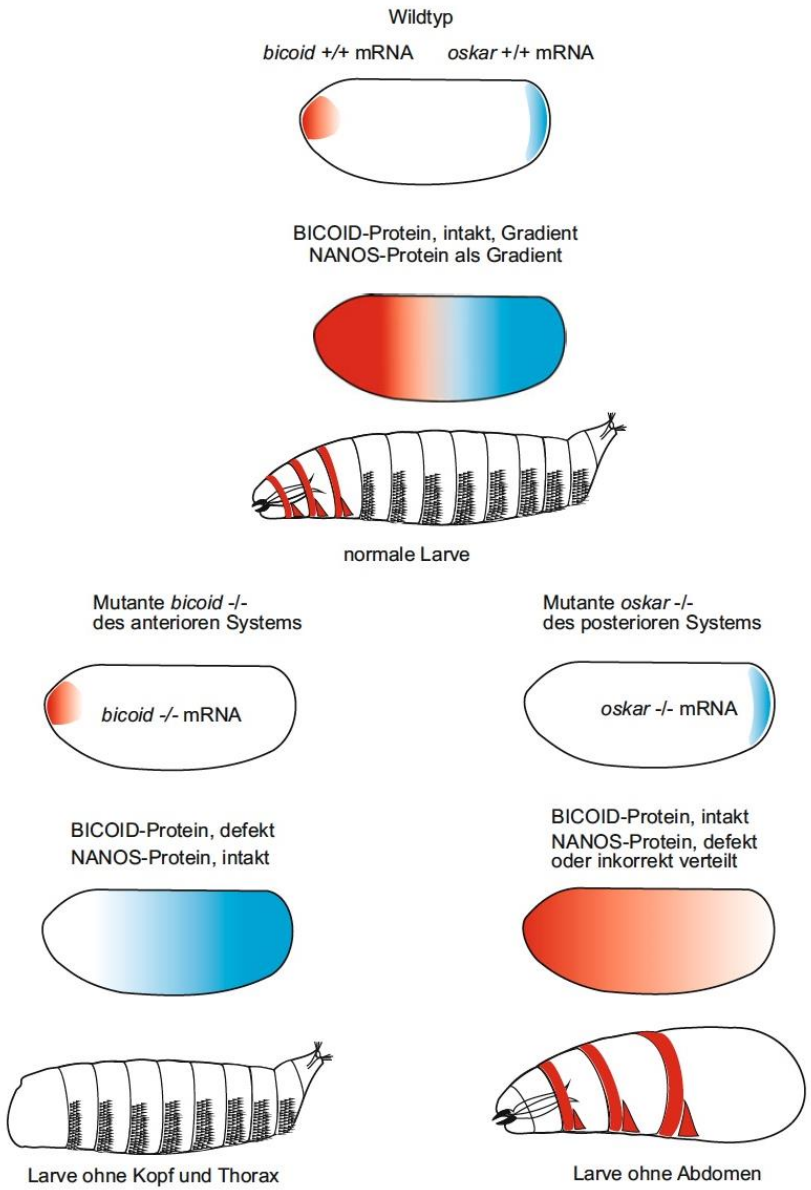


Festlegung der A/P-Achse

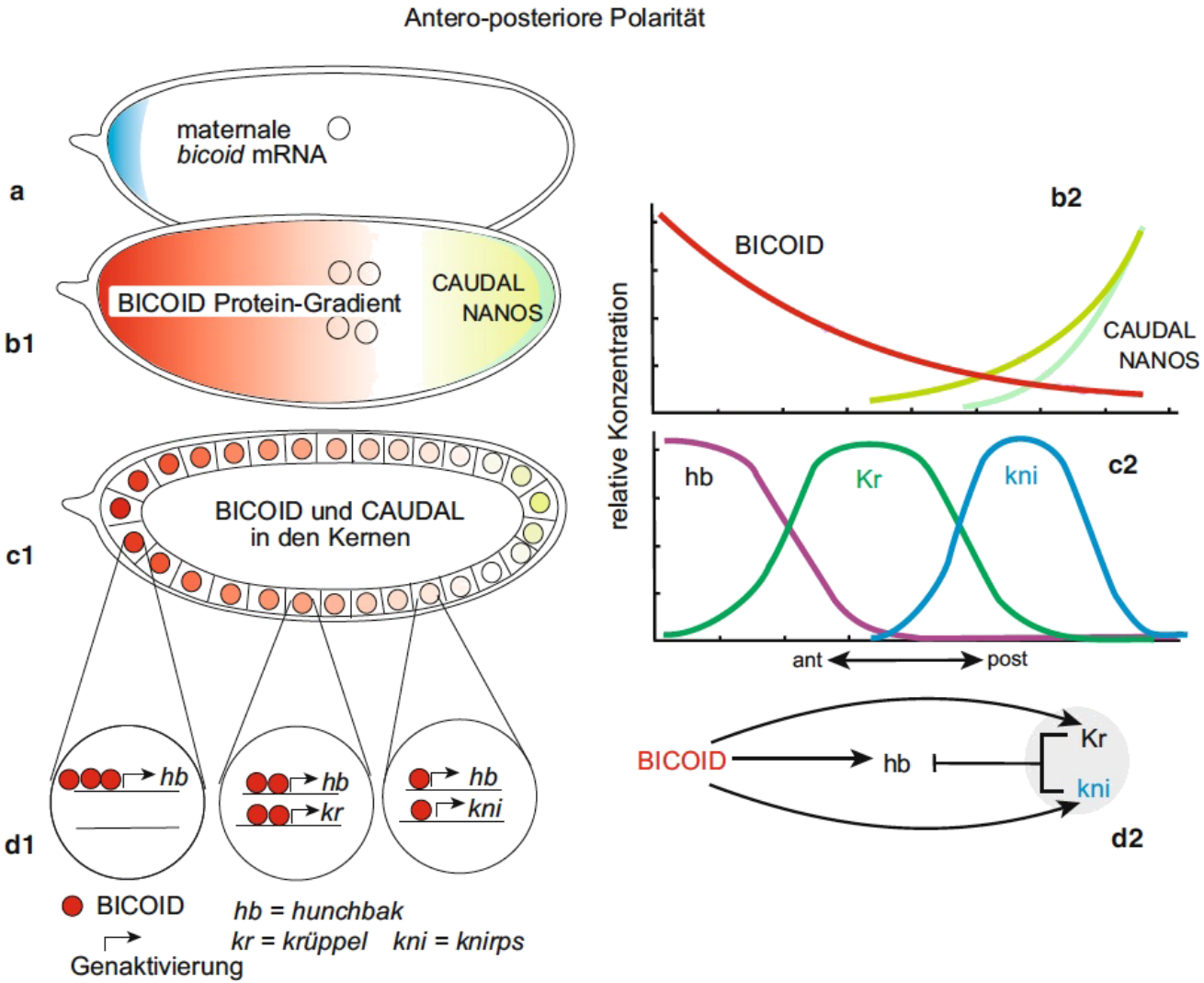
- Oskar wird translatiert und bindet nanos mRNA => bicoid mRNA anterior, nanos RNA posterior



Festlegung der A/P-Achse



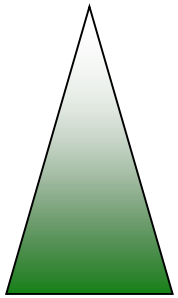
Festlegung der A/P-Achse



Festlegung der D/V-Achse

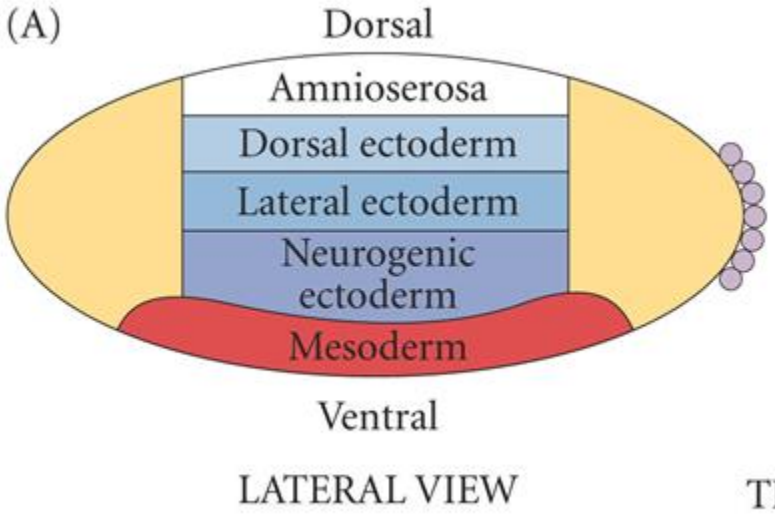
Dorsal

Ventral

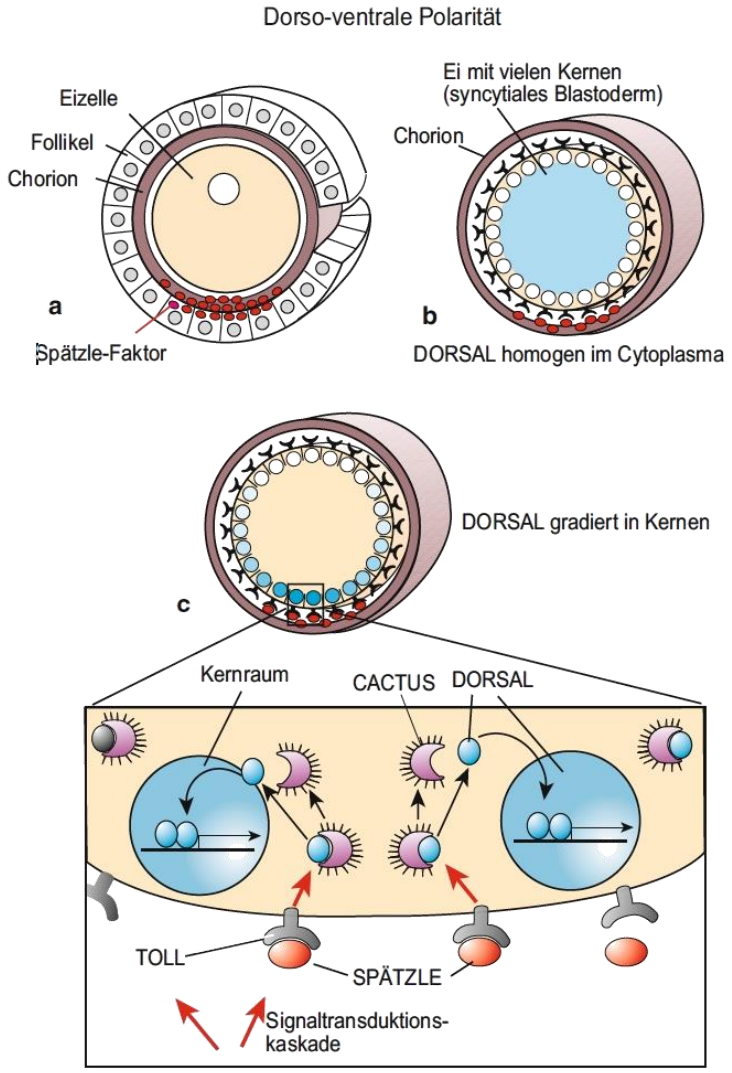


Dorsal

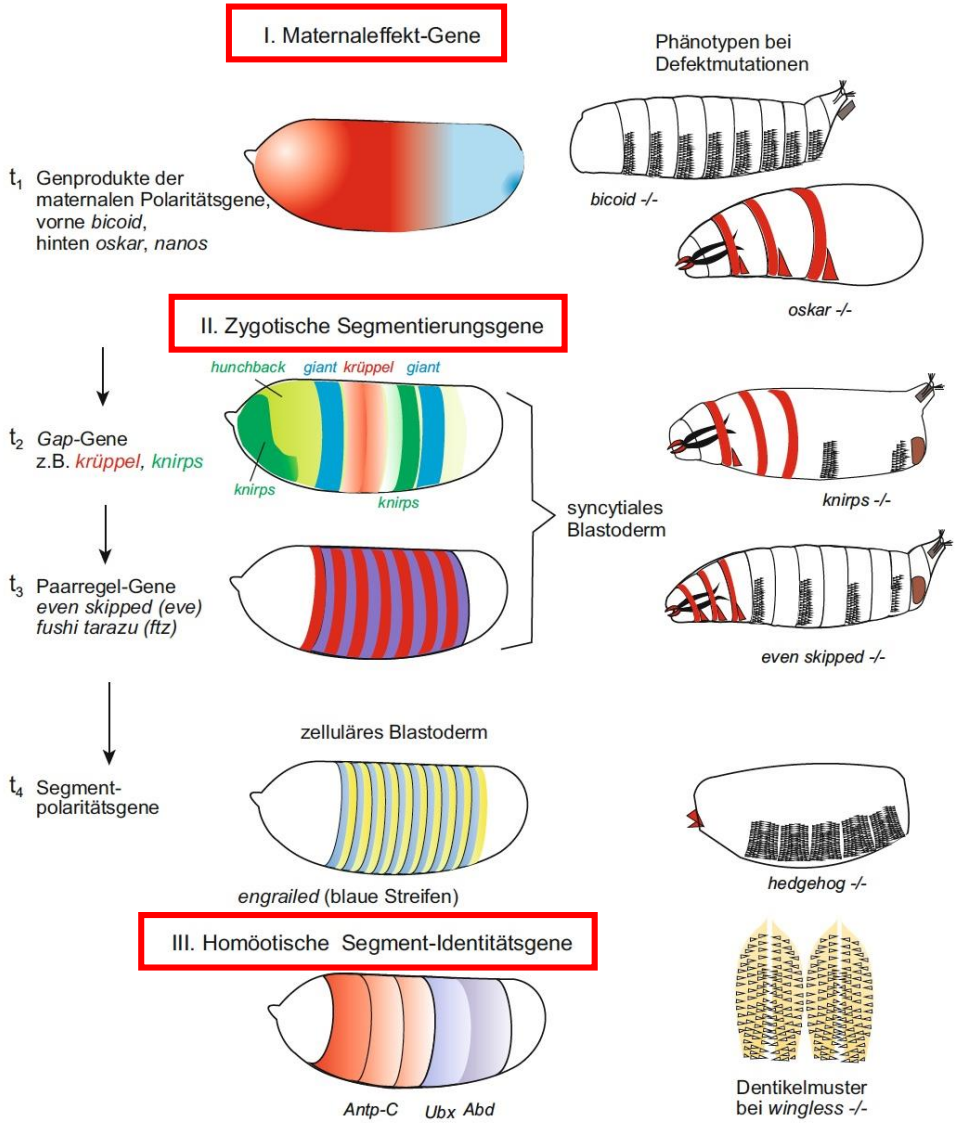
(= morphogenes Protein)



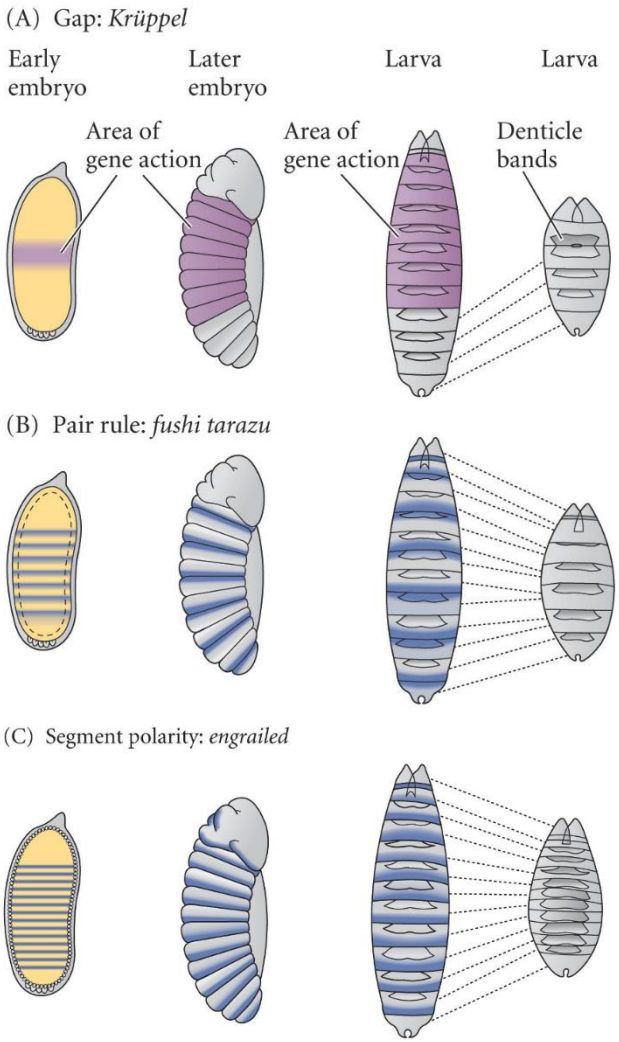
Festlegung der D/V-Achse



Achsenbildung und Segmentierung

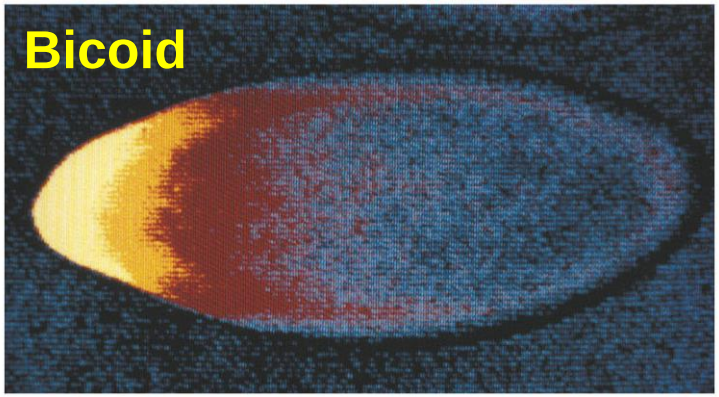


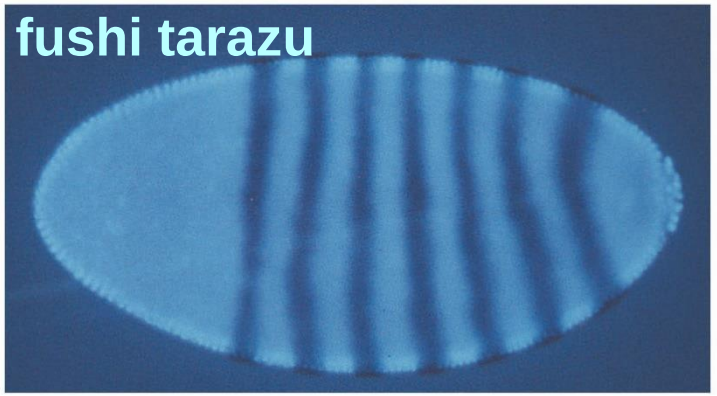
Segmentierungsgene: Mutanten

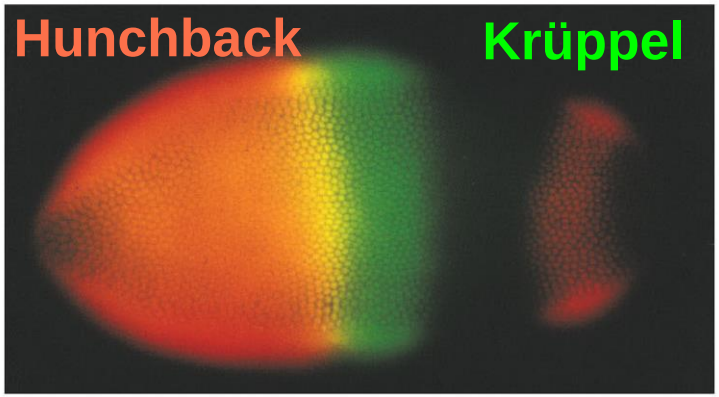


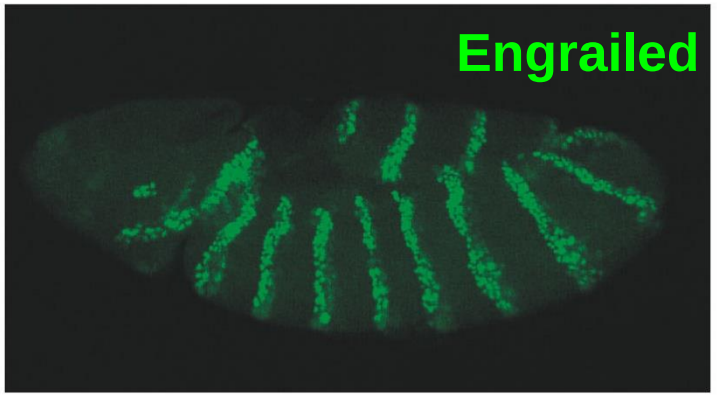
- Lückengene: Teil des Embryos fehlt
- Paarregelgene: Jedes zweite Segment fehlt
- Segmentpolaritätsgene: Halbes Segment fehlt

Kontrolle der Segmentierung entlang der A/P-Achse

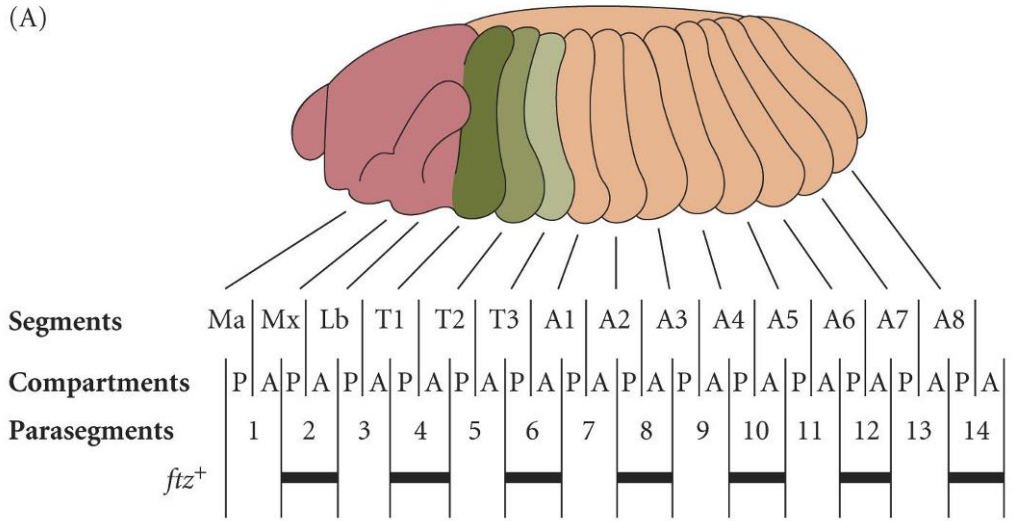








Segmente und Parasegmente


(A)
Segments
Ma Mx Lb T1 T2 T3 A1 A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8
Compartments
P A P A P A P A P A P A P A P A P A P A P A P A P A
Parasegments
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
ftz+

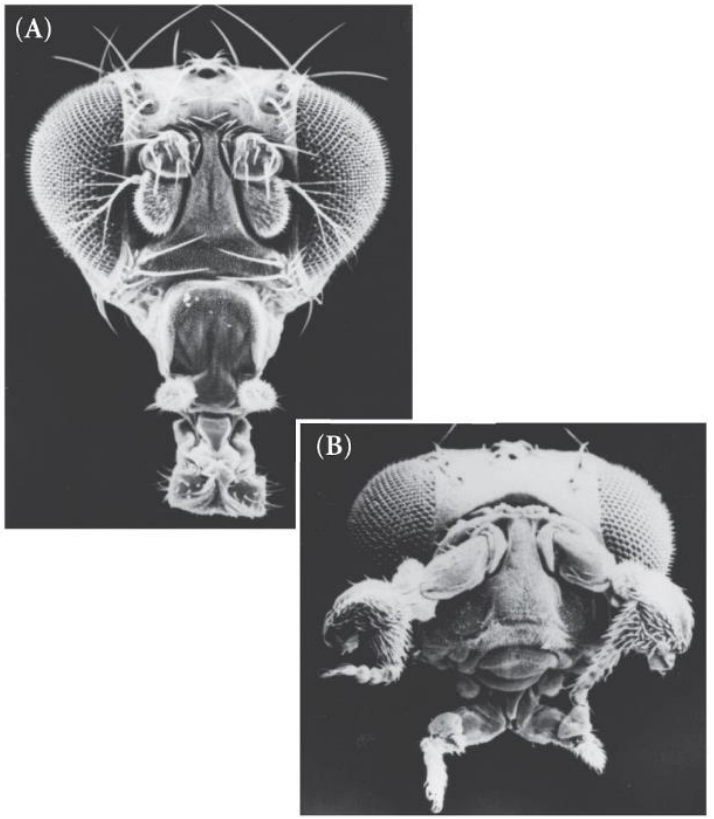
- Frühembryonale Segmente ("Parasegmente") entsprechen nicht larvalen/adulten Segmenten!
- => sind phasenverschoben:
- Endgültige Segmente bilden sich aus der hinteren Teil eines Parasegments und vorderen Teil des folgenden.
- möglicher Grund: Anlage der Ganglien parasegmental => Kontrolle der Bewegung zweier benachbarter Segmente

Segmentierung von Drosophila

- Die Festlegung der Anterior-Posterior-Achse, der Dorso-Ventral-Achse wird durch Gradienten von maternaler mRNA (aus Maternaleffektgenen bicoid, nanos) und den daraus hervorgehenden Gradienten an Proteinen (Hunchback, Dorsal) bewirkt.
- Die grobe Einteilung in Körperabschnitte wird durch Lückengene (krüppel) bewirkt.
- Die Einteilung in Segmente wird durch Paarregelgene (fushi tarazu) bewirkt.
- Die Entwicklung innerhalb eines Segmentes wird durch Segmentspolaritätsgene (engrailed) gesteuert.

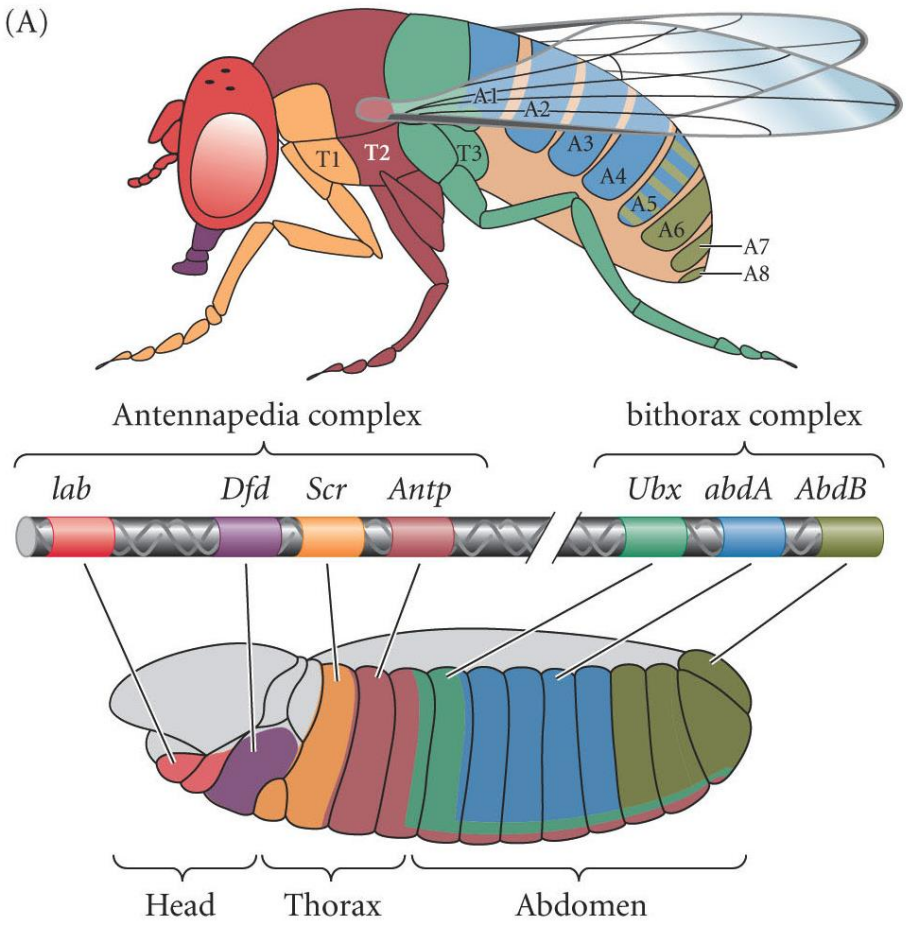
Drosophila: Homöotische Mutationen

DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 9.36 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

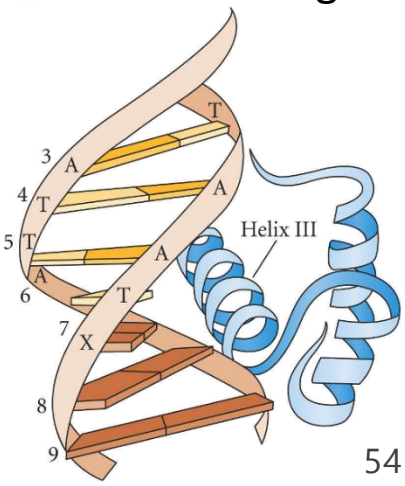


- Mutation im bithorax-Komplex: Umwandlung der Halteren in Flügel
- Mutation im Antennapedia-Komplex: Antennen werden zu Beinen (oder umgekehrt)
- Edward Lewis (1978; Nobelpreis 1995): Homöotische Mutationen = Richtige Strukturen am falschen Ort

Drosophila: Homöotische Gene



- Homöotische Gene spezifizieren das genaue Schicksal des Segments
- Drosophila: homötische Gene an 2 Orten auf Chromosom 3:
  - Antennapedia-Komplex
  - bithorax-Komplex
- Besitzen Homöobox: Kodiert für eine 60 Aminosäuren lange Proteinsequenz (Homöodomäne), die an DNA bindet und somit die Transkription von Genen reguliert.

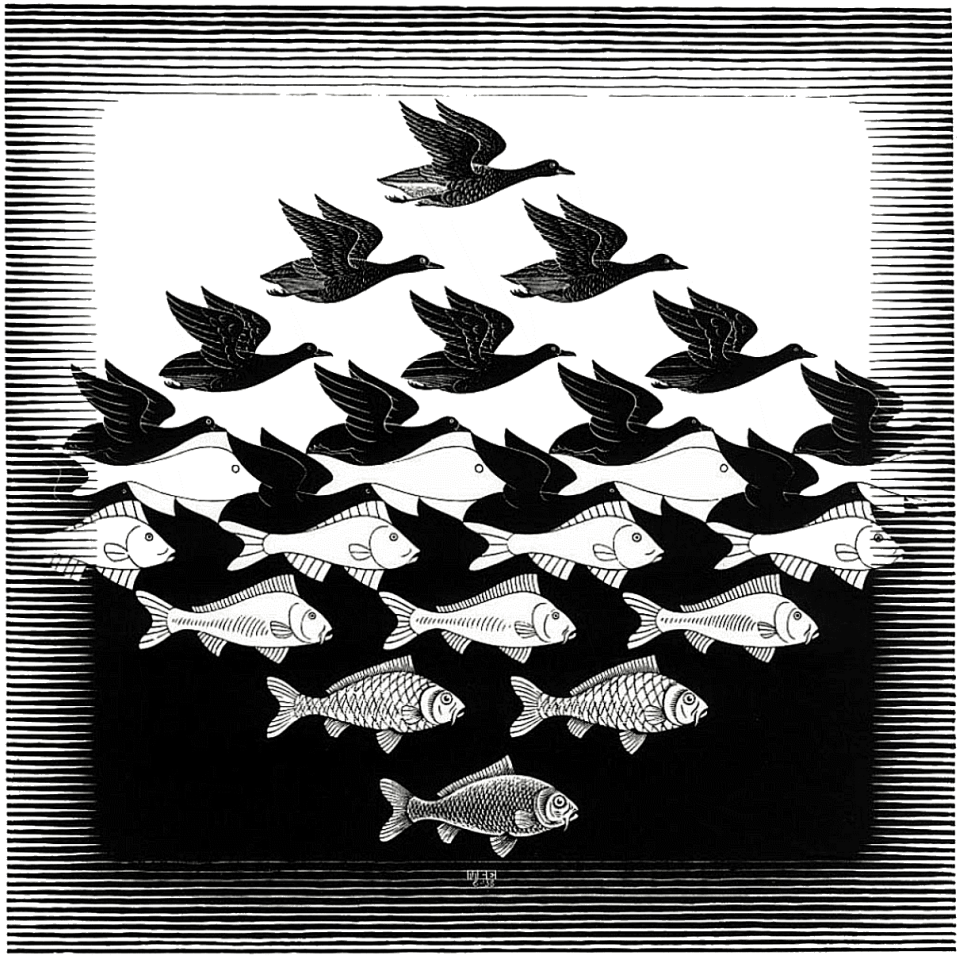


- Homöotische Gene kodieren Transkriptionsfaktoren
- kontrollieren Selektorgene: Modifikation von "Grundprogrammen" in Segmenten

Homöotische Gene

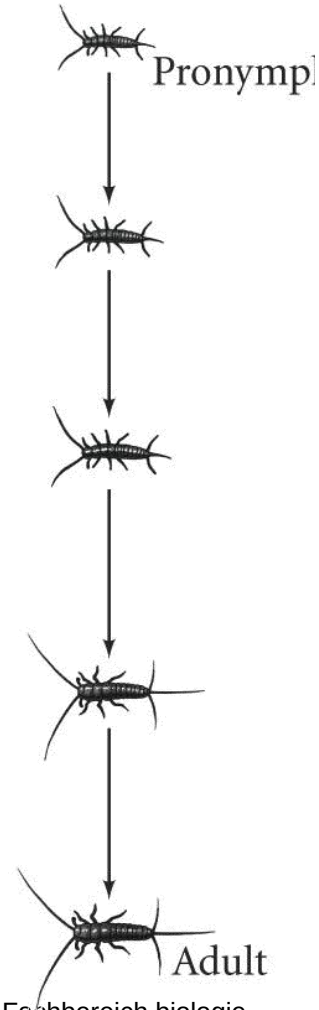
- Homöotische Gene legen die entgültige Identität der Segmente fest.
- Sie besitzen eine Homöobox, die für eine Protein von 60-Aminosäuren kodiert, das an DNA binden und somit die Transkription von Genen beeinflussen kann (Transkriptionsfaktor).
- Sie sind auf Chromosom 3 in 2 Komplexen (Antennapedia-Komplex, Bithorax-Komplex) lokalisiert.

Metamorphose



Entwicklung der Insekten

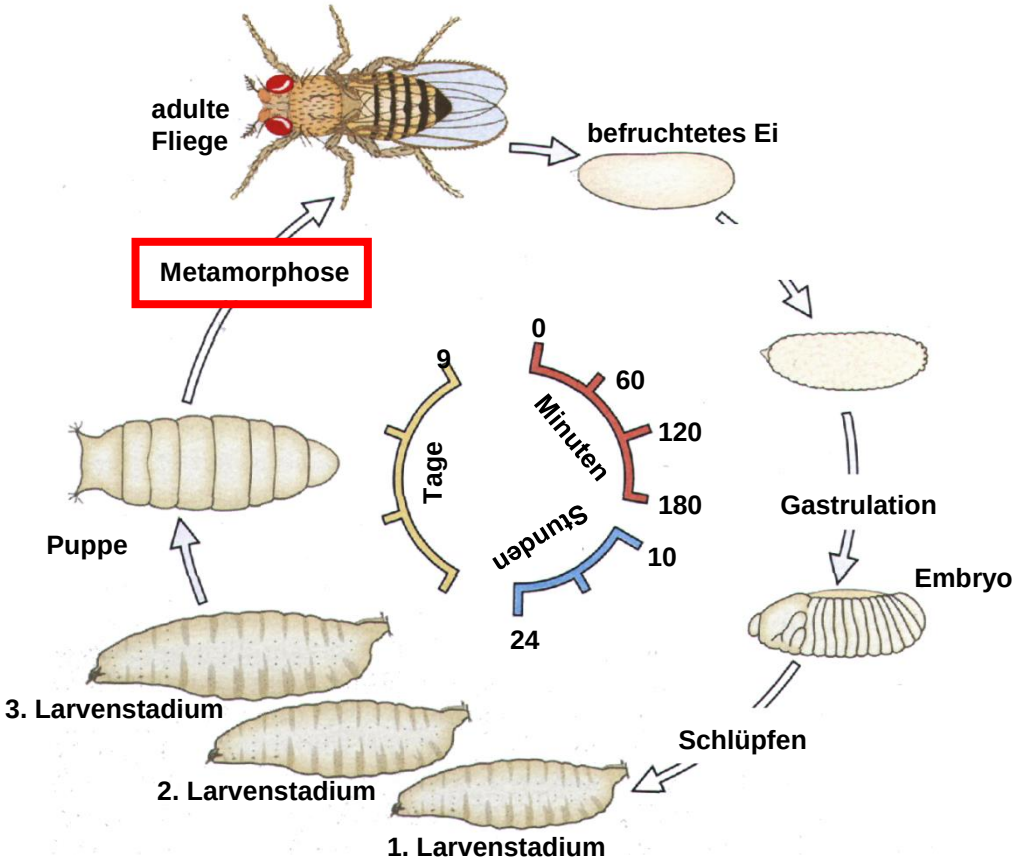
ametabol



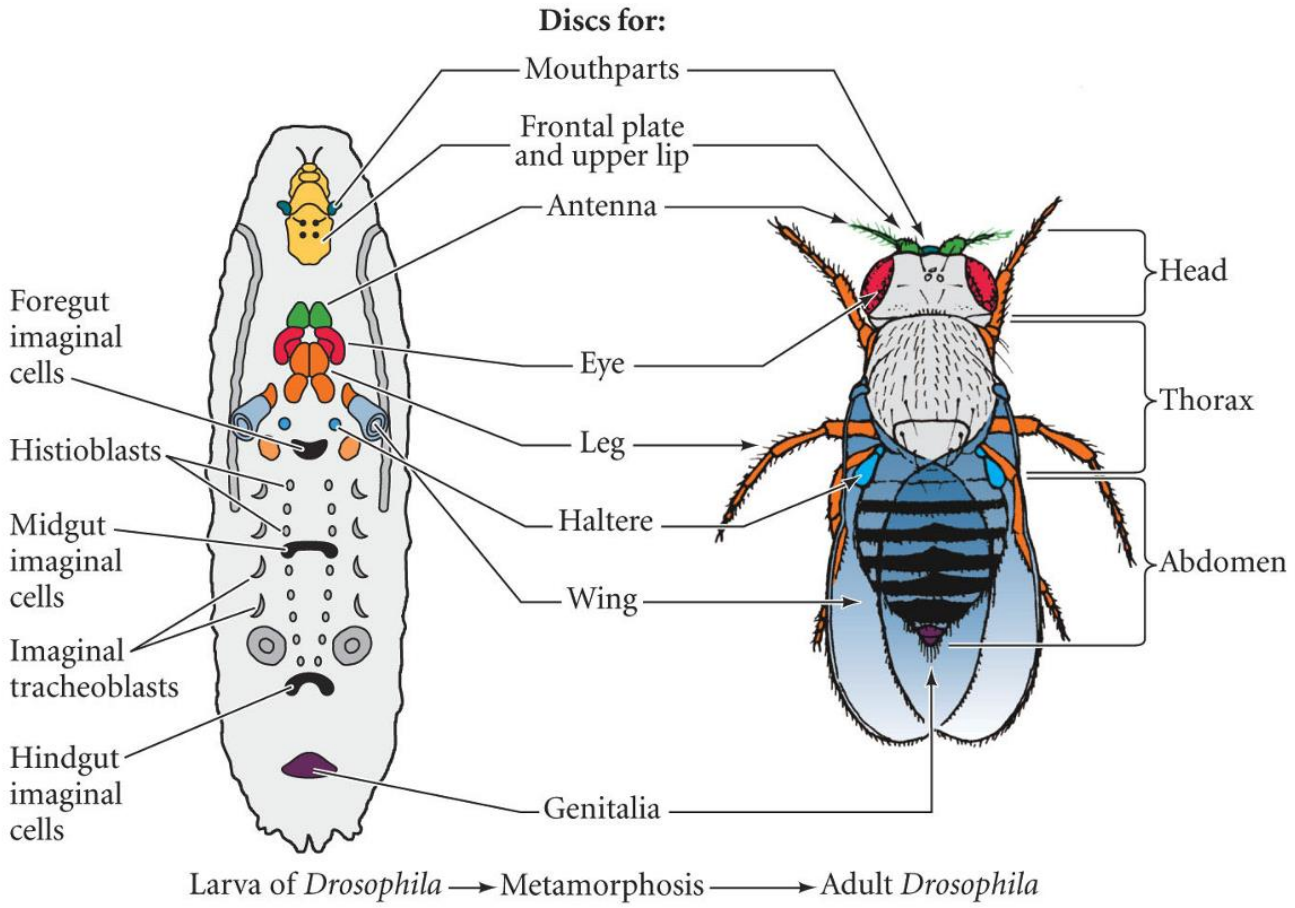
Direkte vs. indirekte Entwicklung:

- meisten Arthropoden mit direkter Entwicklung
- indirekte Entwicklung (mit Larvenstadien) sekundär erworben
- Gründe: Futterressourcen, Verbreitung, Überdauerung ...

Drosophila: Lebenszyklus

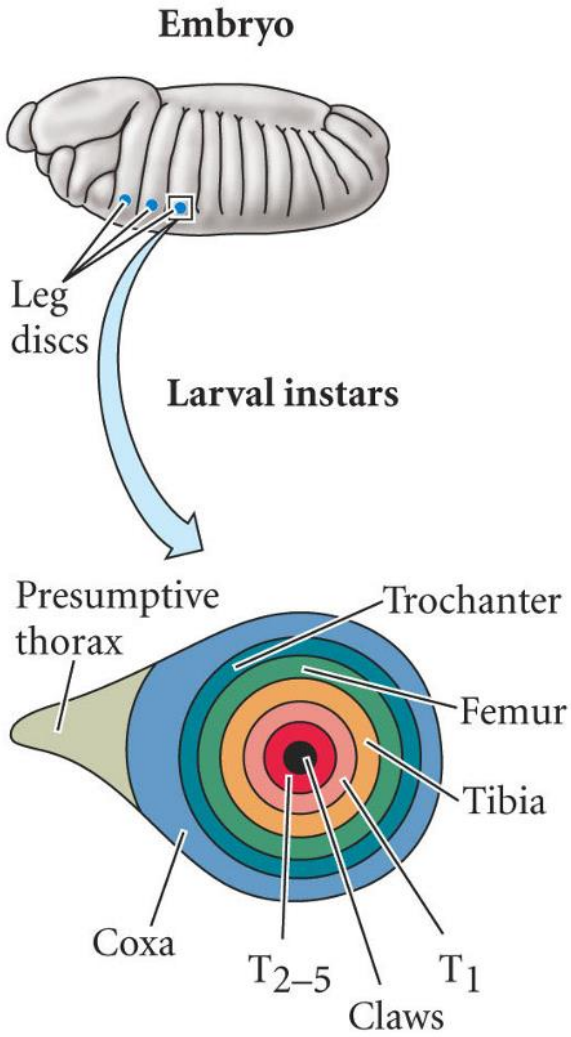


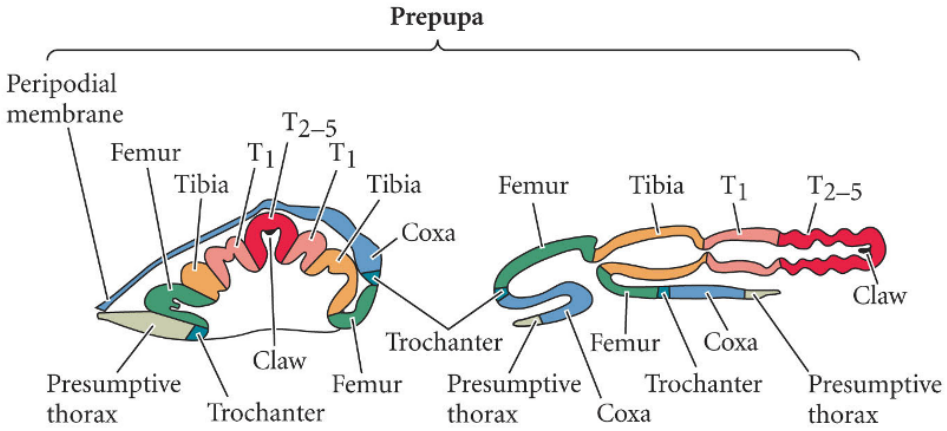
Drosophila: Metamorphose

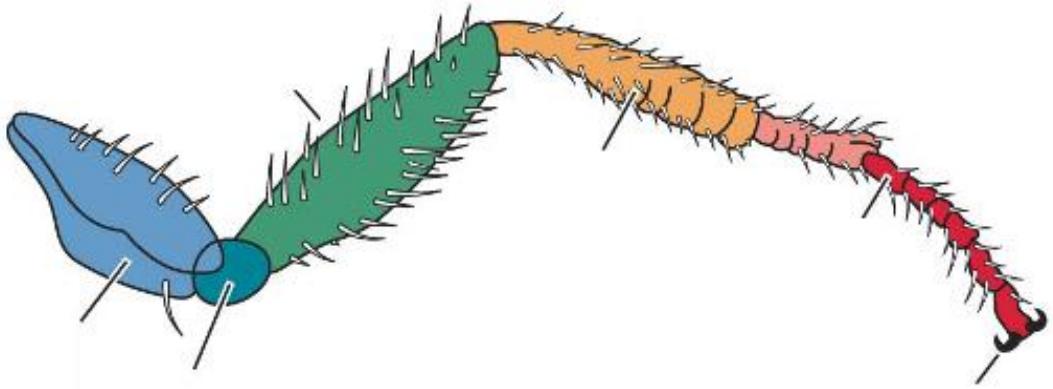


- adulter Organismus wird in Metamorphose aus Imaginalscheiben + Histioblasten aufgebaut
- Imaginalscheiben werden embryonal angelegt, wachsen auf hormonelle Signale während der Metamorphose aus

Drosophila: Metamorphose



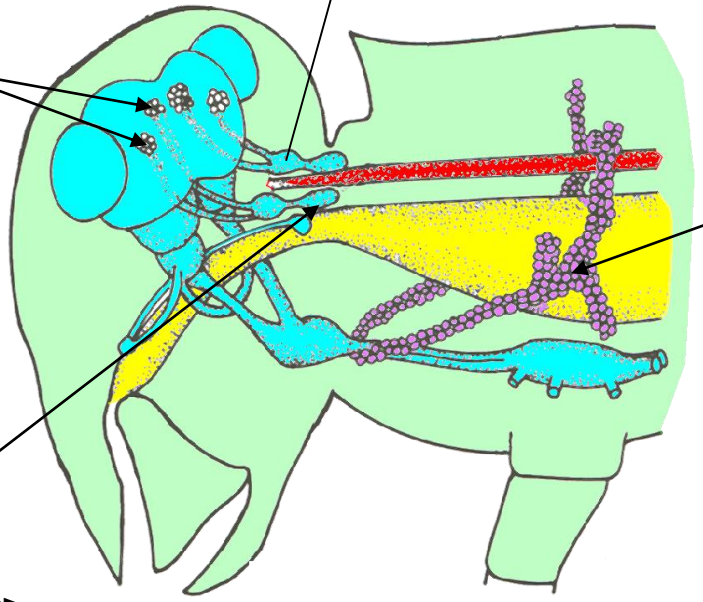




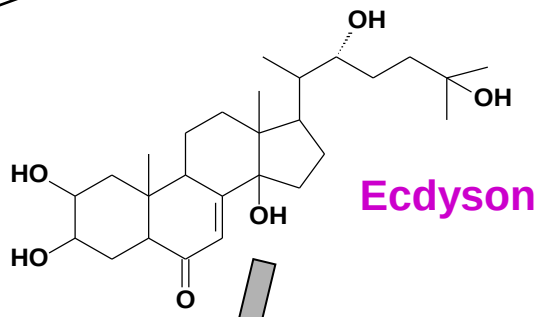
Drosophila: Häutungshormone

Corpora cardiaca =>
Prothoracotrope Hormon (PTTH)

neurosekretorische Ganglionzellen:



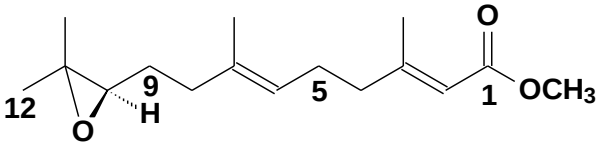
Prothorakaldrüse:

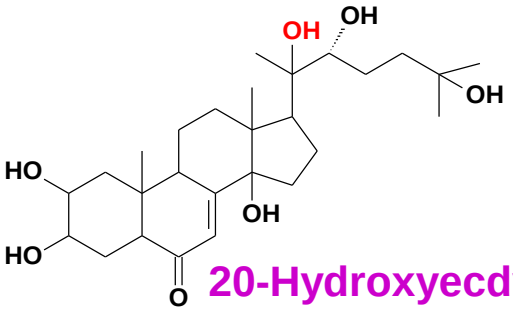


Ecdyson

Corpora allata =>

Juvenilhormon (stimuliert larvales Wachstum, hemmt Metamorphose)



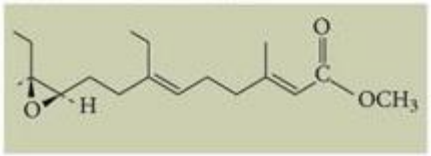


20-Hydroxyecdyson

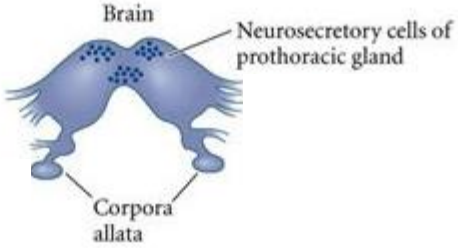
fördert Häutung, fördert Metamorphose

Drosophila: Metamorphose

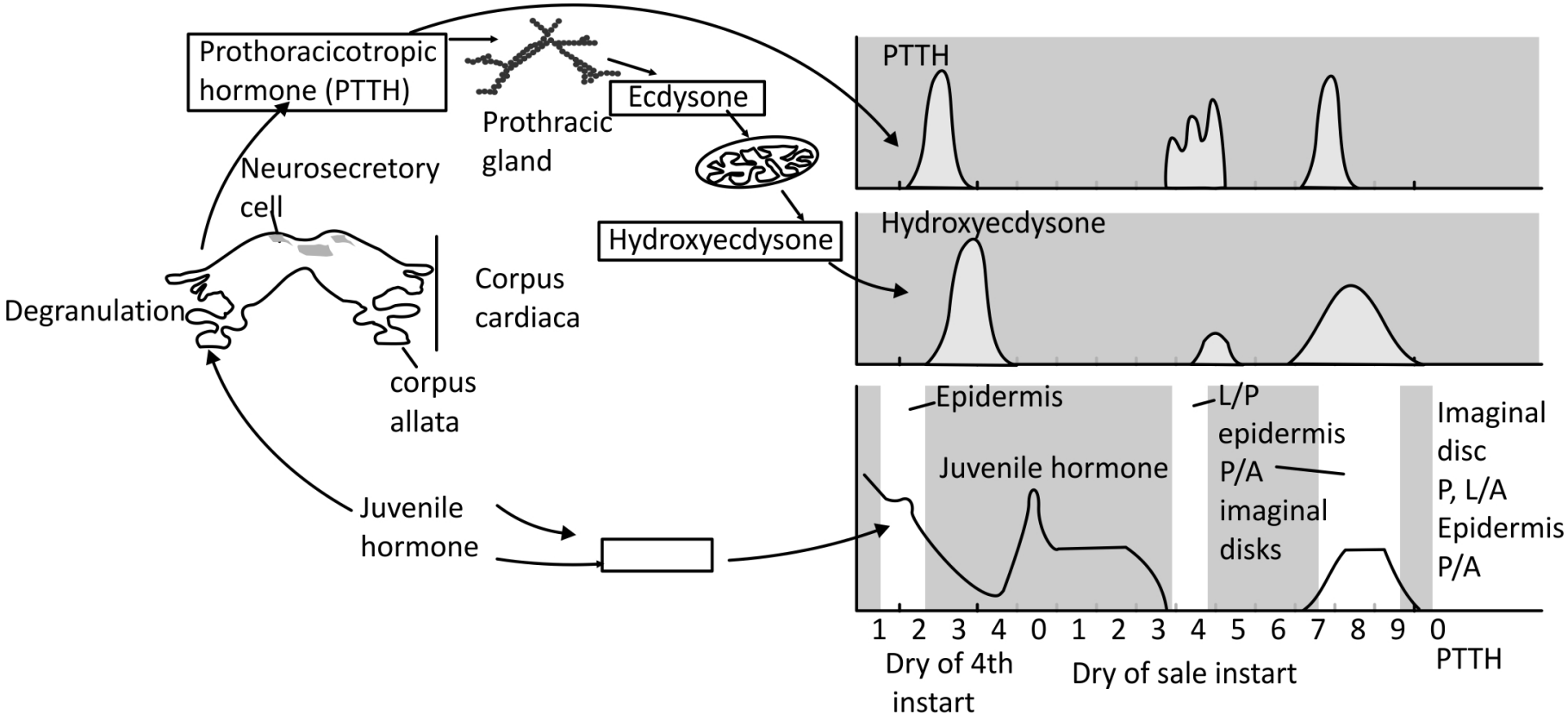
(A) Juvenile hormone (JH)



(B)



Drosophila: Metamorphose



- Beide Hormone sorgen für das jeweils nächste Larvenstadium
- Juvenilhormon resultiert in der Verpuppung wenn 20E-Level niedrig genug sind
- Hydroxyecdyson (20E) initiert die Häutung und Differenzierung

Metamorphose von Drosophila

- Drosophila ist holometabol, besitzt also eine vollständige Metamorphose (mit Puppenstadium).
- Extremitäten und Sinnesorgane des Imago sind embryonal als Imaginalscheiben angelegt.
- Imaginalscheiben wachsen unter hormoneller Kontrolle während der Metamorphose aus.
- Die larvale Häutung und die Einleitung der Metamorphose werden durch die antagonistischen Hormone Juvenilhormon und 20-Hydroxyecdyson kontrolliert.